

# Využití mikroorganismů

- Mikroorganismy jsou všude přítomné
- Díky svému mohutnému metabolickému potenciálu mohou vykonávat nekonečnou řadu aktivit
- Podílí se na koloběhu prvků v přírodě
- Před mnoha tisíci lety se naučil člověk využívat jejich aktivity ve svůj prospěch
- Do současnosti přetrvávají velmi starobylé technologie – klasické technologické postupy
- Pokud enzymatická výbava klasických technologických organismů nestačí uskutečnit požadavky člověka, jsou vybírány nebo konstruovány mikroorganismy nové jako součást vědního a technologického oboru biotechnologie

# Biotechnologie

- Ukazuje se, že na rozvoji biotechnologií mají největší podíl mikroorganismy. Je však nutné zdůraznit, že “člověk biotechnologický“ je zase jen člověk a nemá moc rád, když se mají zaběhnuté procesy měnit od základu
- Proto i v biotechnologiích přetrvávají “konvenčně“ využívané organismy a nové “netradiční“ se uplatňují velice obtížně a většinou tam, kde tradiční organismy neuspějí

# Biotechnologie

- Toto zjištění je však v přímém rozporu s Perlmanovými

## “Zákony aplikované mikrobiologie“

- Základní zákony říkají, že
  - Mikroorganismus má vždy pravdu**
  - Mikroorganismus je Tvým přítelem**
  - Mikroorganismus je velice citlivým partnerem**
  - Neexistuje žádný hloupý mikroorganismus**
  - Mikroorganismy existovaly a budou existovat stále**
  - Mikroorganismy jsou elegantnější, moudřejší a energetičtější než biologové, chemici, inženýři atd.**
- Někdy jsou mikroorganismy označovány jako “**živé továrny na makromolekuly**“ nebo jako “**bioreaktory**“

# Fermentované mléčné produkty

# Mléko

- Celková jakost mléka závisí na podmínkách jeho tvorby, získávání a ošetřování v zemědělské prvovýrobě
- Obsahuje potřebné živiny a další látky ve výhodném poměru (bílkoviny, tuky, laktóza, kyselina citrónová,, chloridy, fosfáty, soli vápníku, vitaminy A, B, C, D, E, K atd.)
- **Primární mikroflóra** se do mléka před dojením dostává především strukovým kanálem, výjimečně krevním oběhem
- Celkový počet mikroorganismů ve vemeni zdravých krav je nízký (cca  $10^2 \cdot \text{ml}^{-1}$ ). Převažují mikrokoky méně streptokoky a *Corynebacterium bovis*)
- Primární mikroflóra nemá významný vliv na kvalitu mléka. Ta je ovlivněna **sekundární mikroflórou**, tj. kontaminací při dojení a během dalšího zpracování

# Mléčné produkty

- Fermentované mléčné nápoje
- Sýry
  - Čerstvé sýry
  - Bílé sýry
  - Měkké sýry
  - Plísňové sýry
  - Sýry s mletou sýřeninou
  - Sýry z nízkodohřívané sýřeniny
  - Sýry z vysokodohřívané sýřeniny
- Máslo

# Fermentované mléčné nápoje

- **Kysaná mléka** – pasterovaná mléka zaočkovaná základní smetanovou kulturou (*Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus lactis subsp. diacetylactis*)
- Kysnutí trvá 24-48 hodin. V průběhu fermentace vzniká kyselina mléčná, citrónová, octová, diacetyl, acetoin. Bílkoviny mohou být rozloženy až na volné aminokyseliny
- Vyrábí se s 2% hm.tuku nebo 3,5% hm.tuku



# Fermentované mléčné nápoje

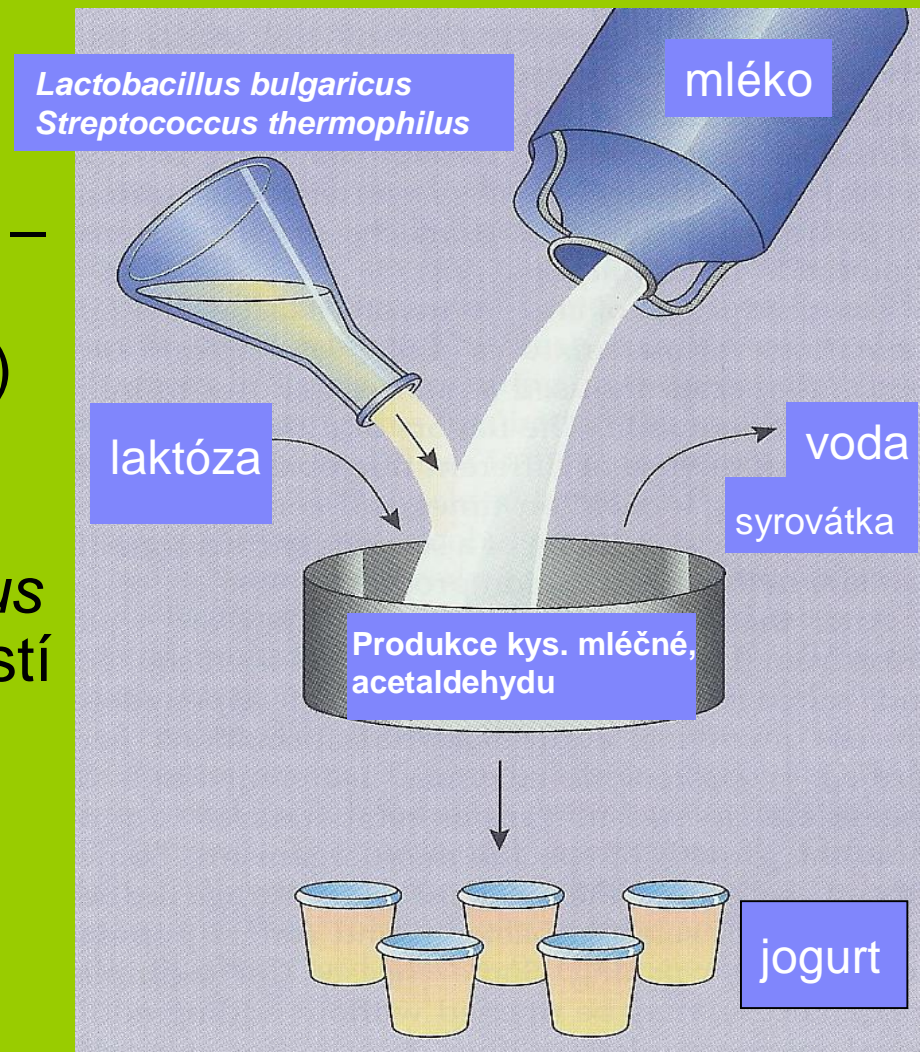
- **Kysané podmásílí a šlehané podmásílí**
- Podmásílí - zbylá plazma po stloukání másla. Obsahuje z hlediska výživy cenné složky (bílkoviny, fosfolipidy, .....)
- Kysané podmásílí se nechává dozrát s původní kulturou (kulturou pro výrobu másla)
- Šlehané podmásílí – k podmásílí se přidá pasterované mléko nebo smetana a základní smetanová kultura. Obsah tuku - cca 1% hm.

# Fermentované mléčné nápoje

- **Kysané smetany**
- Pro zakysání se používá základní kultura *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Leuconostoc cremoris*, *Leuconostoc dextranicum* a to ve větším množství (důvod - vysoký obsah tuků, který neumožňuje optimální rozvoj kultury)
- **Kysaná smetana s 12%hm.tuku** – zraje 16-20 hodin v nádrži a po ochlazení na 8°C se plní do obalů
- **Kysaná lahůdková smetana (40% hm.tuku)** – v části smetany se nechá nabobtnat malé množství želatiny, která se přidává současně s kulturou do tanku. Po promíchání se plní do obalů a nechá zrát asi 20 hodin
- **Kysaná krémovitá smetana (18%hm.tuku)** - směs pro výrobu : plnotučné mléko, smetana, sušené odstředěné mléko, stabilizátor (enzymově upravený bramborový škrob). Zrání 14 - 19 hodin v obalech nebo ve zracím tanku

# Fermentované mléčné nápoje

- **Jogurty** – bílé neochucené, ovocné
- Podle rheologických vlastností – pevné (tuhé), krémovité (pastovité), tekuté (nápoje)
- Jogurtová kultura – *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*  
Pro zvýšení dietických vlastností jogurtu se přidává *Bifidobacterium bifidum* a *Lactobacillus acidophilus*



# Fermentované mléčné nápoje

- **Kefír** - kefírová kultura pochází jednak z **Kavkazských hor** a také z opatství v **Tibetu** (tamní kefírová zrna nazývaná *Tibetská houba* jsou drobnější) a jsou snad 5000 let stará.
- Co se Kavkazu týká, tak podle legendy daroval kefír ortodoxním příslušníkům Aláhův prorok, Mohamed. Kvůli pověře, že „Prorokova zrna“ ztratí svoji moc a sílu, pokud by se ho zmocnili nevěřící, byl přísně střežen před cizinci a byl předáván z generace na generaci a pokládán za součást kmenového bohatství.
- Obsahuje malé množství etanolu



**Kefírová zrna**

# Fermentované mléčné nápoje

- **Složení kefírové kultury**

- **Bakterie mléčného kvašení**

*Lactobacillus acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. cellobiosus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. fructivorans*, *L. helveticus* subsp. *lactis*, *L. hilgardii*, *L. kefir*, *L. kefiranofaciens*, *L. kefirgranum* sp. nov, *L. parakefir* sp. nov, *L. lactis*, *L. plantarum*

*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* var. *diacetylactis*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*,

*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*,

*Enterococcus durans*,

*Leuconostoc cremoris*, *Leuc. mesenteroides*

# Fermentované mléčné nápoje - složení kefírové kultury

- **Kvasinky** - *Candida kefir*, *C. pseudotropicalis*, *C. rancens*, *C. tenuis*, *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus* var. *marxianus*, *K. bulgaricus*, *K. fragilis* / *marxianus*, *Saccharomyces lactis*, *Sacc. unisporus*, *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*
- **Acetobakterie** - *Acetobacter aceti*, *A. rasens*

# Fermentované mléčné nápoje

- **Kumys** – **vinum lactis** - je tradičním nápojem kočovníků střední Asie. Připravuje se z kobyliho, velbloudího nebo oslího mléka
- Kumys je mléčný šumivý alkoholický nápoj (1-3% obj. etanolu, po 3 dnech až 8%), s vínovou chutí, příjemně nakyslý. Je lehce stravitelný, urychluje látkovou výměnu, způsobuje pocení a je močopudný
- Složení mikroflóry je značně nestabilní, ale obsahuje vždy *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus kumys*, *Lactococcus lactis*, *Thermobacterium bulgaricum*, *Saccharomyces kumys*, *Torulopsis kumys* a další
- K zaočkování mléka se používá sedlina starého kumysu



# Fermentované mléčné nápoje

## kumys

- Obsahuje vitamíny B1, B2, B6 a B12. Vitamínu C je přítomno o něco více než v citrónu, 50 až 60 procent bílkoviny, (cukru jako v mateřském mléce). Litr kumysu je výživností srovnatelný s 800 gramy dobrého chleba. Pacientům se podává pouze 1 denní kumys
- dvoudenní kumys má 110 stupňů kyselosti, ale pak začíná rychle octovatět



# Mléčné produkty

- Fermentované mléčné nápoje
- **Sýry**
  - Čerstvé sýry
  - Bílé sýry
  - Měkké sýry
  - Plísňové sýry
  - Sýry s mletou sýřeninou
  - Sýry z nízkodohřívané sýřeniny
  - Sýry z vysokodohřívané sýřeniny
- máslo

# Sýry

- Příprava tvarohu

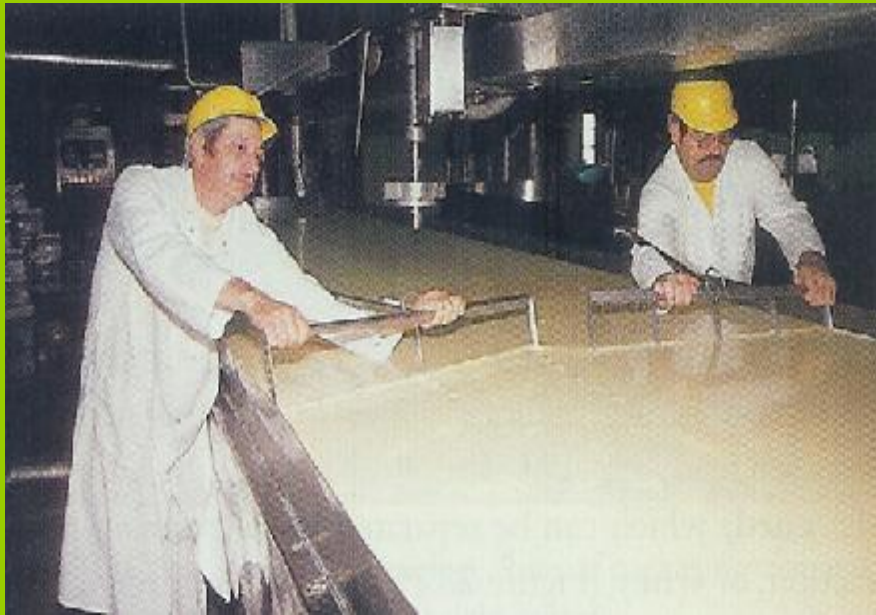
- Jednodenní tvaroh

Smetanový zákys – *Streptococcus lactis*,  
*Streptococcus cremoris*, *Lactobacillus casei*  
*Leuconostoc cremoris*. Teplota srážení  
mléka 20-22°C

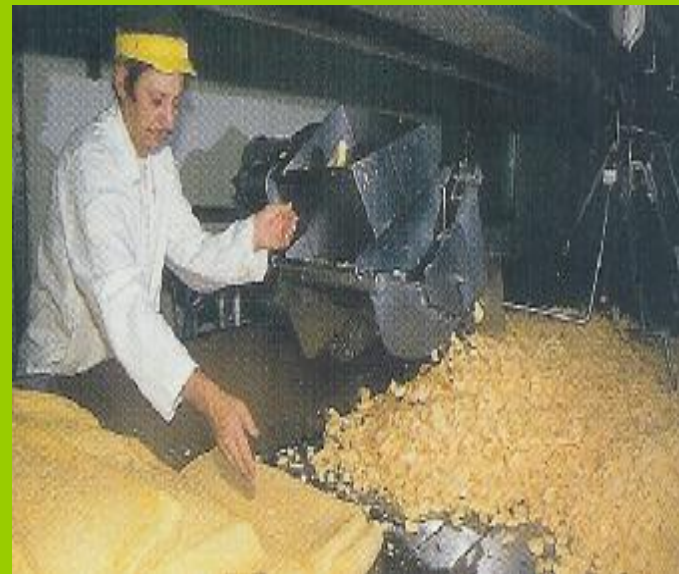
- Dvoudenní tvaroh

Smetanový zákys – *Streptococcus lactis*,  
*Streptococcus cremoris*, *Leuconostoc*  
*cremoris*. Teplota srážení 16-18°C. Tvaroh je  
jemnější s výraznější chutí

# Sýry



**Výroba sýřeniny  
(harfování)**



**Krájení tvarohu**

# Čerstvé sýry

- **Krémový sýr** – 50% tuku v suš.  
(jednodenní nebo dvoudenní tvaroh – tření v kutru –  
přídavek cukerinu +kyseliny citronové – balení do  
válečků
- **Imperial** - 50% tuku v suš.,  
Jednodenní nebo dvoudenní tvaroh + NaCl (do  
1,5%)
- **Kapiový sýr** - 50% tuku v suš.  
Jednodenní nebo dvoudenní tvaroh + smetana  
(33%) +kapie+cibule+NaCl+Kari koření
- **Smetanové krémy** – 16% tuku v suš.  
Jednodenní nebo dvoudenní tvaroh+cukr+(džem,  
kakaová hmota, čokoláda nebo jiné chuťové  
přísady)+ušlehaná smetana

# Bílé sýry

- Sýry z ovčího nebo kravského mléka vyráběné na Balkánském poloostrově a Malé Asii. Spotřebovávají se jako čerstvé nebo uchovávané v solném nálevu (i více než rok)
- Obsah tuku v suš. 40-50%, obsah soli 6-8%
- Akawi, Istambuli, balkánský, Jadel

# Měkké sýry

- Smetanový zákys + *Lactobacillus casei*  
+ *Streptococcus lactis* var. tae-tte
  - Desertní 20% t.vs., 1,5-3% NaCl
  - Kmínový 10% t.vs., 1,5-3% NaCl
  - Romadúr 20% t.vs., 1,5-3% NaCl
  - Romadúr 50% t.vs., 1,5-3% NaCl
  - Pivní 53% t.vs., 4,5-6,5% NaCl
- Doba zrání je obvykle 14 dnů a sýry se obden ošetřují 3% roztokem NaCl

# Plísňové sýry

- Patří mezi nejpikantnější sýry. Výběrem vhodného kmene plísně je možné prakticky vytvořit jakoukoliv chuť
- **Sýry s plísní v těstě** (Roquefort, Niva, gorgonzola)
- **Sýry s plísní na povrchu** (Camembert, Hermelín, nalžovský, De Brie)

# Plísňové sýry

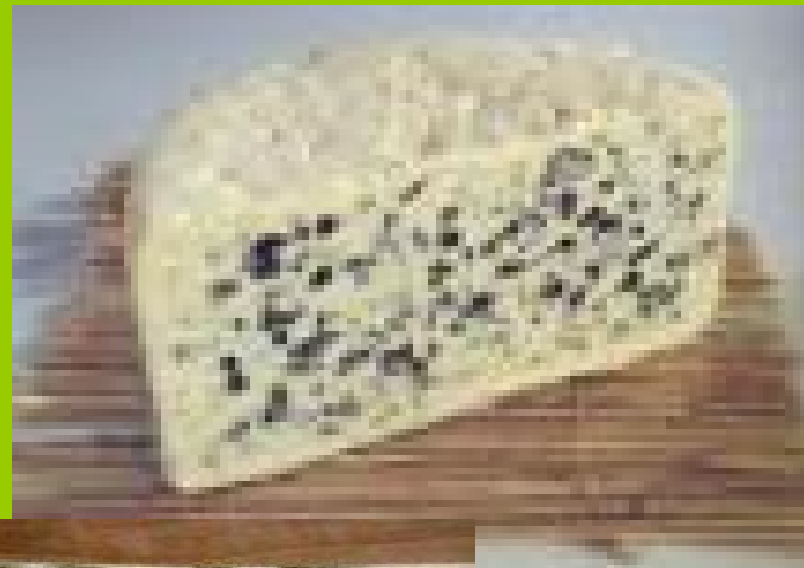
## Sýry s plísní v těstě

- Tento typ sýra byl vyráběn již dobách římských ze syrového ovčího mléka
- U nás se vyráběl ze syrového kravského mléka. Nyní se mléko šetrně pasteruje (72°C, do 30 sekund)
- Zasýření – smetanový zákys + *Penicillium roqueforti* + *Torulopsis sphaerica* + sýřidlo
- Po naformování se sýry 5 dnů solí a po oschnutí „píchají“ (očkování spor *Penicillium roqueforti* – 1cm<sup>2</sup> jeden vpich). Další píchání je po deseti dnech zrání při teplotě 12-14°C. Celková doba zrání je 6-8 týdnů



# Plísňové sýry

## Sýry s plísní v těstě



*Penicillium roqueforti*

Stopy po jehle

# Plísňové sýry

## Sýry s plísní na povrchu

- Poprvé byl vyroben v roce 1791 v obci Camembert v departmentu l'Orne paní Maria la Fontaine
- V malých mlékárnách se používá mléko kozí + mléko kravské, ve velkých pak jen mléko kravské
- Zasýření – smetanový zákys – sýřenina se nekrájí, tvořítko se plní postupně – druhý den se sýřenina vyjme z tvořitek a očkuje *Penicillium camemberti* (obvykle ve směsi s *Penicillium candidum*)
- Zrání – 5 dnů při teplotě 15°C, 10-14 dnů zrání při 13-15°C. Sýry zrají na lískách z bambusu nebo s výpletem ze syntetického vlákna (denně se obracejí)

# Plísňové sýry

## Sýry s plísní na povrchu



**Transport sýřeniny  
do tvořitek**



**Tvořítka se sýřeninou na lískách**



**“Stohování“ lísek**

# Plísňové sýry

## Sýry s plísní na povrchu



AOC Camembert de Normandie

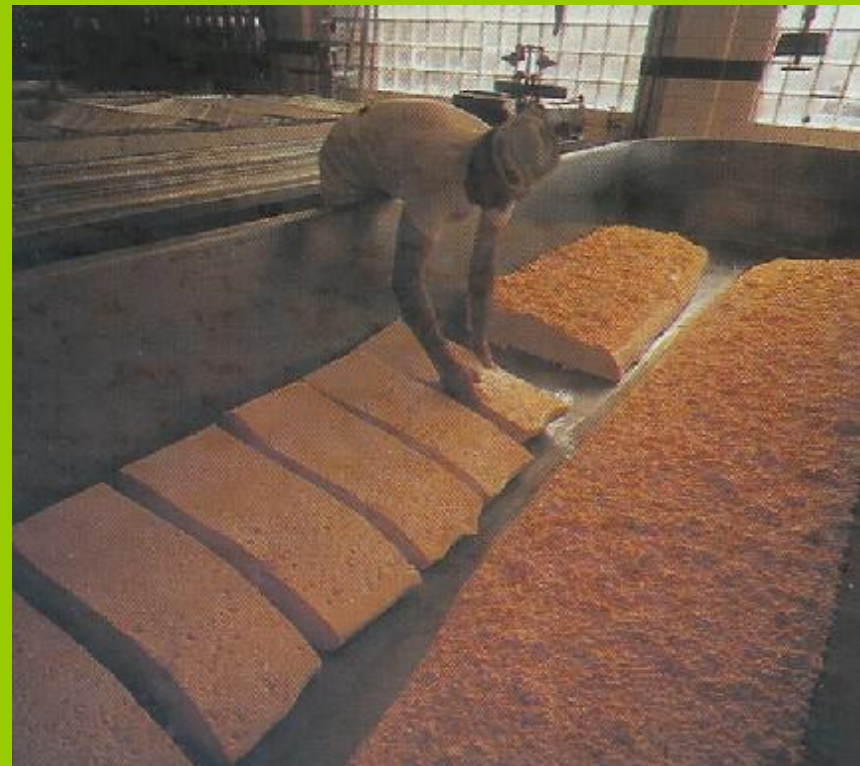


# Sýry s mletou sýřeninou - Čedar

- Název podle vesničky Cheddar v Anglii, kde byl poprvé vyroben
- Původně se vyráběl z kozího nebo ovčího mléka, potom se přešlo na výrobu z kravského mléka
- Zásýření – smetanový zákys + čedarová kultura (*Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis*) + *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* + sýřidlo
- Během srážení se sýřenina přehřívá na až na 40°C a dosouší při této teplotě asi 70 minut

# Sýry s mletou sýřeninou - Čedar

- Sýřenina při vypouštění syrovátky se shrabuje ke stranám, aby mohla volně odtékat (čedarování)
- Rozkrájená sýřenina se několikrát mele a solí
- Plnění do tvořítek a lisování
- Doba zrání 6-18 měsíců
- Váha klasického bochníku je 27,5 kg
- Vedle čedaru se dále vyrábí sýr Otava (ČR), Kaškaval – na Balkáně. Vyrábí se z ovčího nebo kravského mléka



# Sýry z nízkodohřívané sýřeniny

## Aidam

- Původ technologie výroby těchto sýrů je v severním Holandsku, proto jsou označovány jako sýry holandské
- Patří mezi ně eidamská cihla, eidamská koule (**správný název je Edam**. Po roce 1945 se v ČR už objevuje pouze název EIDAM a asi už nezjistíme proč), gouda, salámový sýr, mini gouda, Javor, Světlan,.....
- Nejvyšší váhu má Javor – 11-13 kg, nejmenší mini gouda 48 dkg

# Sýry z nízkodohřívané sýřeniny

## Aidam

- Zasýření – smetanový zákys + *Streptococcus cremoris* + *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis* + *Lactobacillus casei* + sýřidlo
- Technologický postup – srážení mléka – odpouštění syrovátky – dohřívání (u sýrů 30% t.vs.- 33-36°C, 40-45%t.vs. – 36-40°C) – dosoušení – plnění tvořítek – lisování (10 min. 0,1 kp, 10 min 0,2 kp, 10 min 0,3kp) – solení – zrání (ošetřování slanou vodou, pod vazelínou, pod voskem, pod plísní, v Cutisinu)
- Doba zrání 3-8 týdnů



# Sýry z nízkodohřívané sýřeniny

## Eidam

- **EIDAM - známý sýr s nesprávným názvem.**
- Tento sýr získal svůj název od přístavního městečka Edam am IJsselmeer v severním Holandsku, kde se vyráběl již ve 14. století.
- Výroba byla rozvinuta hlavně v provincii Nord Holland (25 km severně od Amsterdamu), ale brzy se rozšířila po celém Holandsku a Edam (nebo Edammer kaas = Edamský sýr)
- Již od roku 1570 se v městě Edam pořádají až do dnešní doby tradiční týdenní sýrové trhy
- Holandsku se Edam vyrábí v několika tvarových variantách: Baby Edam - koule o hmotnosti 0,8 - 1,2 kg, Edam - koule o hmotnosti 1,7 - 2,5 kg, Commisiekaas - Komisní sýr - (dvojitý edam) - koule o hmotnosti 3 - 4,5 kg, Middlebare edam - sýr kořeněný kmínem, Broodkaas (Brood-Edammer) - hranol o hmotnosti 2,5 - 4,5 kg a v nových sýrárnách se Edam vyrábí i ve formě až 12 kg bloků. Obvykle je sýr se žlutým nebo červeným voskem



# Sýry z nízkodohřívané sýřeniny

## Eidam



- Muži v historických uniformách a s kloboučkem zabarveným podle příslušnosti k obchodní firmě přenášejí na speciálních nosítkách až 80 koulí sýra, tedy dohromady okolo 200 kg. S edamskými sýry se podobně obchoduje také na proslulém sýrařském trhu v Alkmaaru

**Je-li sýr pokrytý černým voskem, znamená to, že je uzrálý alespoň po sedmnáct měsíců. Výborně se hodí k vínu Pinot Noir a pochopitelně k pivu**

# Sýry z vysokodohříváné sýřeniny

## Ementál

- Patří k nejnáročnějším na kvalitu mléka i technologii výroby
- Původ ementálu je ve Švýcarsku, kde nejlepší se vyráběl v údolí říčky Emmen – proto Emmenthaler Käse. Písemné doklady o výrobě jsou z 15. století
- Původně se vyráběly sýry malé a později se jejich velikost zvětšovala. Nyní, aby ve Švýcarsku se mohl sýr označit jako ementálský, musí vážit nejméně 70 kg (u nás 65 kg). Vyrábějí se i tzv. malé ementály o váze 35-40 kg
- Představitelem je Ementál, dále pak moravský bochník, Parmezán, Sbrinz, Toporocký sýr, Trapist,....

# Sýry z vysokodohříváné sýřeniny

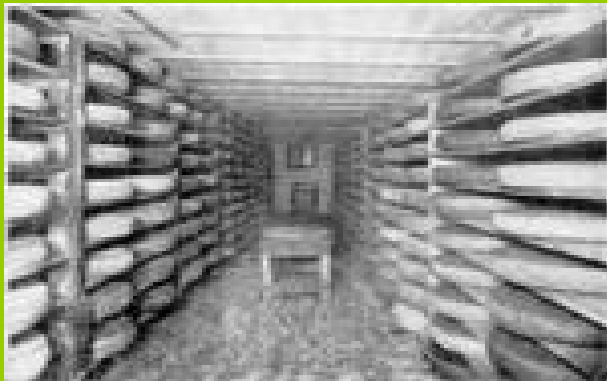
- Zasýření – smetanový zákys + ementálská kultura (*Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*) + propionová kultura (*Propionibacterium freudenreichii*, *Propionibacterium freudenreichii* susp. *shermanii*) + sýřidlo
- Technologický postup – srážení mléka – krájení sýřeniny – harfování - dohřívání na teplotu 53-55°C – dosoušení – plnění tvořítek – lisování (5x při různých tlacích) – solení – zrání (chladný sklep, předkvasný sklep, kvasný sklep, přechodný sklep, zrací sklep – celková délka zrání asi 150 dní) - ošetřování slanou vodou - nyní centrální zrací sklepy nebo zrání ve zvláštních fóliích

# Sýry z vysokodohříváné sýřeniny

## Ementál



Sýrařské kotle s harfami



Zrací sklep



- Propionová kultura zajišťuje vytváření hladkých ok v sýru a je také zodpovědná za buket – z kyseliny mléčné tvoří kyselinu propionovou, která spolu s  $\text{Ca}^{2+}$  dává propionan vápenatý, s typickou nasládlou příchutí a aroma
- Vedle typických organizmů jsou také přítomné sporulující bakterie (vytvářející těkavé kyseliny dodávající sýrům jemné příchutěové odstíny) a kvasinky (*Candida casei*) podílející se na rozkladu kaseinu a tvorbě příchutěových látek

# Výroba másla

- Výroba

z kyselé smetany

ze sladké smetany

# Výroba másla z kyselé smetany

mléko



odstředění

smetana - úprava

zmáselňování

stloukání

podmáslí

máslo

praní, hnětení, solení

formování

balení

zakysání smetanovým zákysem

(*Streptococcus lactis*, *Str. lactis*  
var. *diacetylactis*, *Str. cremoris*,  
*Leuconostoc cremoris*,  
*Leuconostoc dextranicum*  
*Leuconostoc citrovorum*)



# Výroba másla z kyselé smetany

- Stloukání se provádí v máselnicích (dřevěných nebo kovových) a získá se máselné zrno
- V dalším kroku se odlučuje máslové zrno od podmáslí (dříve sběračkou)
- Praní - při praní se zrno omývá a chladí
- Hnětením se odlučuje přebytečné podmáslí (voda) a dojde ke spojení jednotlivých zrn
- Dříve se máslo formovalo do šišek a balilo se do křenových listů nebo do různě vyřezávaných dřevěných forem





# Výroba másla z kyselé smetany

- *Str. lactis* vytváří kyselinu mléčnou
- *Str. cremoris* a *Str. lactis* var. *diacetylactis* vytvářejí aromatické látky
- *Leuconostoc* tvoří aromatické látky z kyseliny citrónové. Významná je tvorba diacetylu
- Produkty metabolismu mikroorganismů působí antioxidačně, mají stabilizující a antimikrobiální efekt
- Pro zvýšení stability a organoleptických vlastností jsou do smetanového zákysu přidávány kvasinky rodu *Saccharomyces* nebo *Torulopsis*

# Výroba másla ze sladké smetany

- Postup je stejný jako u výroby z kyselé smetany jen s tím rozdílem, že ke smetaně se přidává **technický zákys** :
  - kyselina mléčná
  - kyselina octová
  - kyselina mravenčí
  - jodičnan draselný
  - aromatické látky (především diacetyl)

# Fermentované nápoje

## pivo

- Technologie výroby piva – etapy
  - Výroba sladu
  - Výroba mladiny
  - Kvašení a dokvašování piva

# Fermentované nápoje

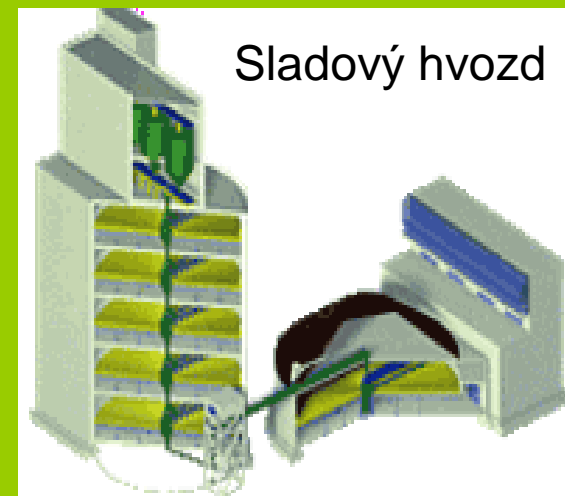
## pivo - výroba sladu

- 1.fáze – máčení zrna

- 2.fáze – klíčení

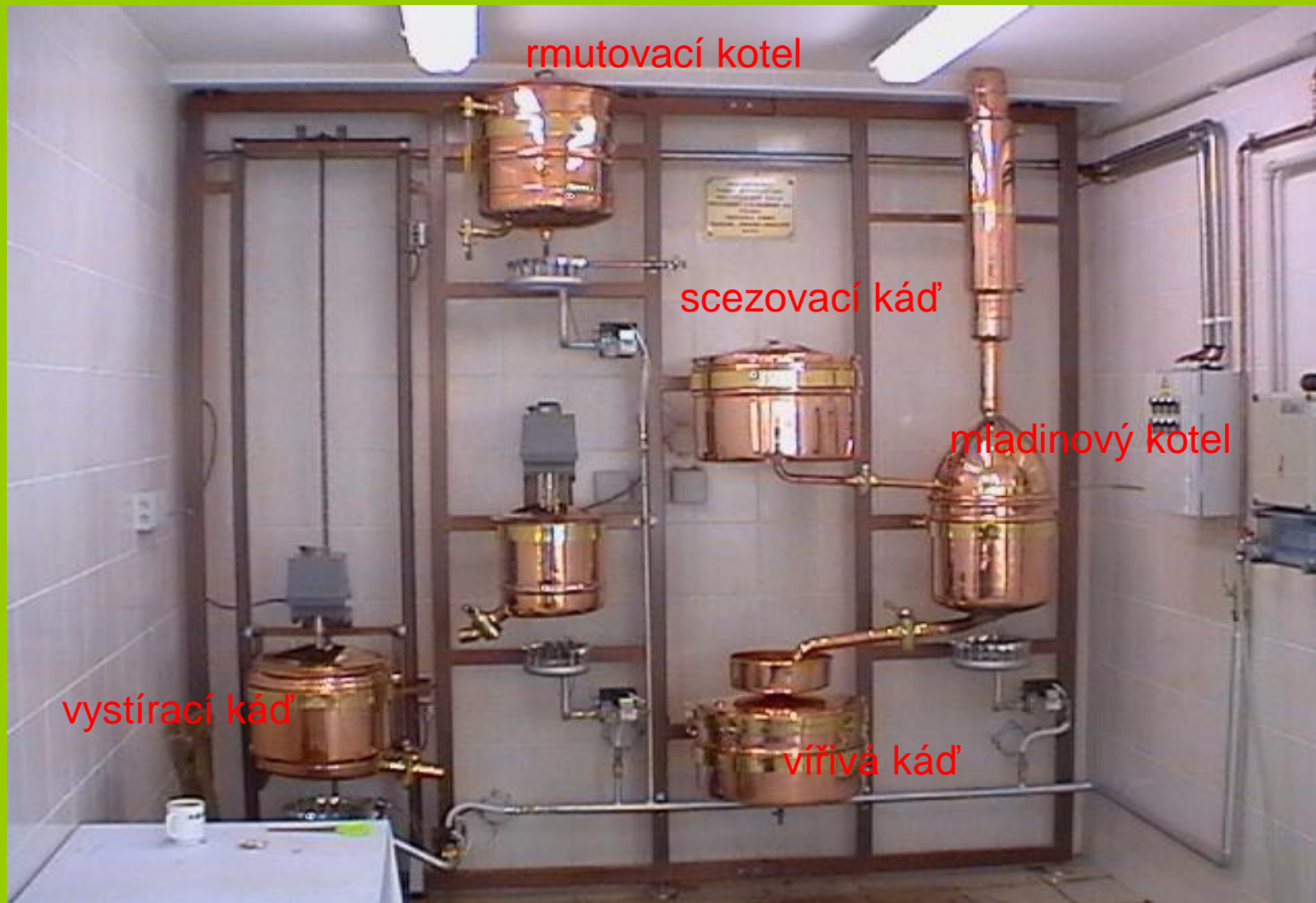


- 3. fáze – hvozďení (příprava světlého a tmavého sladu)



# Fermentované nápoje

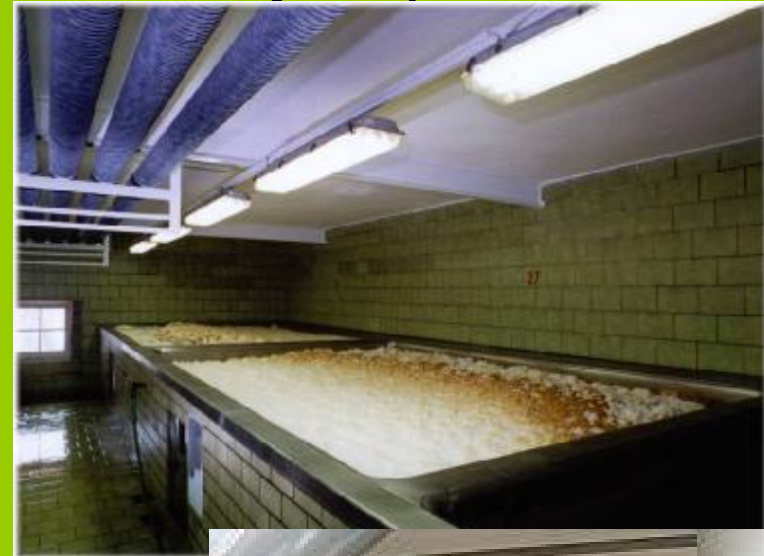
## pivo - výroba mladiny



# Fermentované nápoje

## pivo - kvašení

- Hlavní kvašení probíhá v chlazených prostorách – spilkách
- Kvasné nádoby jsou otevřené – **kádě** betonové, ocelové



- uzavřené – **cyindrisko**  
**konické tanky** (CK tanky)



# Fermentované nápoje

## pivo - kvašení



Bílé kroužky



Hnědé kroužky

# Fermentované nápoje

## pivo - dokvášení

- Dokvašování piva probíhá v ležáckých nádobách (dřevěných nebo kovových) při teplotě 0-5°C
- Klesá zkvasitelný extrakt
- Kvasinky postupně sedimentují a strhávají sebou část vysokomolekulárních dusíkatých a polyfenolových látek
- Pivo se čeří a získává přirozenou koloidní stálost
- Chemickými procesy získává pivo odpovídající chuť a aroma

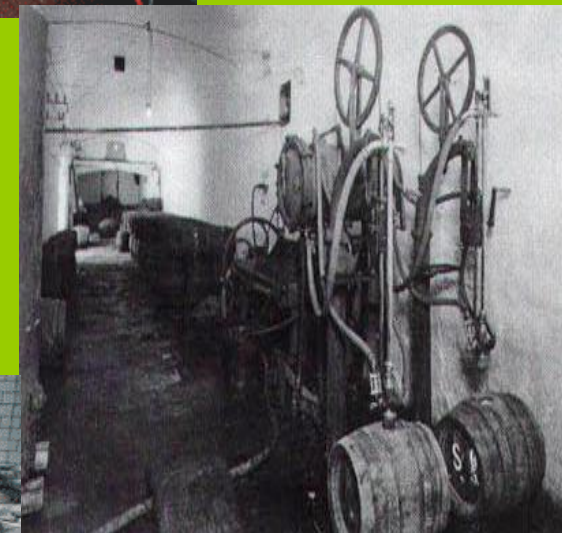




# Fermentované nápoje

## pivo – filtrace, expedice

- Po skončeném ležení se pivo filtruje (směs celulózy a asbestu, křemelina, pivovarská filtrační hmota, perlity, filtrační desky,...)
- Stabilizuje – přidáním stabilizátorů
- Stabilizátory - **bentonity a silikagely** (adsorbují dusíkaté látky), **tanin** (sráží dusíkaté látky), **polyamidy** (adsorbují polyfenoly), **enzymové přípravky** (např. papain-štěpí vysokomolekulární dusíkaté látky), **antioxidační preparáty** (kys. askorbová, glukózaoxidáza,..)
- Pasterace filtrovaného a stabilizovaného piva



# Fermentované nápoje

## pivo - typy piv

- **Piva spodně kvašená**
  - **Plzeňský typ** – světlé pivo 10 až 12% (původní koncentrace mladiny), silně chmelené, středně prokvašené
  - **Dortmundský typ** – světlé pivo 13 až 14% (původní koncentrace mladiny), hluboko prokvašené, obsahující až 4,8% alkoholu, mírně hořké
  - **Mnichovský typ** – tmavé aromatické pivo až 14%, výjimečně 19%, málo chmelené, nasládlé chuti
  - **DIA pivo** – 8 až 10% s minimálním obsahem zbytkových, tzv. zatěžujících, sacharidů, je hluboko prokvašené se zvýšeným obsahem alkoholu

# Fermentované nápoje

## pivo - typy piv

- **Piva svrchně kvašená** (hlavní kvašení při teplotách nad 10°C) – kvasinky většinou r. *Brettanomyces*
  - “**Ale**“ ▶ 11 až 20%, mírně chmelená s velkou pěnivostí a výraznou chutí po sladu
  - “**Stout**“ a “**Porter**“ ▶ tmavá vysokoprocentní, hluboko prokvašená (6,8% alkoholu), silně chmelená
  - “**Lambic**“ ▶ vysokoprocentní, hluboko prokvašené s typickou chutí (výroba v Bruselu)
  - “**Weissbier**“ ▶ středně prokvašená, středně chmelená s nakyslou chutí (přítomnost mléčných bakterií) výroba Německo
  - Většina piv produkovaných ve Velké Británii a Belgii

# Pivu podobné nápoje

- **Pito** – nealkoholický nápoj, při jehož přípravě se vychází z 4% mladiny a zkráceného kvašení. Doba kvašení je volena tak, aby obsah alkoholu nebyl vyšší než 0,59%
- **Ruský kvas** – nápoj z ječného nebo žitného sladu, žitné mouky. Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Obsahuje asi 0,5% alkoholu
- **Pombe** – vyráběný z prosa činností *Saccharomyces pombe*. Obsahuje asi 0,5% alkoholu. Někdy se označuje jako “africké pivo“

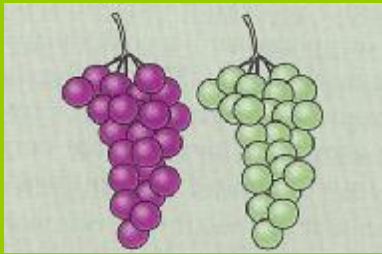
# Fermentované nápoje

## víno

- Víno se vyrábí prakticky po celém světě. Polovina celkové produkce je v Evropě (Itálie, Španělsko, Portugalsko, Francie, Německo) a asi 20% je z jižní a severní Ameriky
- V XV.století potulný mnich Basilius Valentinus naučil vinaře odstraňovat z vína "faeces vini" (vinné exkrementy) – stáčení vína
- Aktivita Pasteura – výběr kvasinek, pasterace vína
- Mikroorganismy podílející se na výrobě vína : *Kloeckera appiculata*, *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *Saccharomyces oviformis*, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Lactobacillus* ssp. (pro jablečno-mléčnou fermentaci – snížení kyselosti vína)

# Fermentované nápoje

## výroba bílého vína



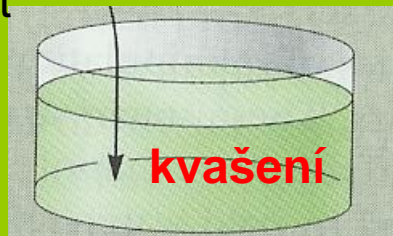
mletí hroznů

Rmut – rozdrčené bobule

Lisování

matolína  
vylisované zbytky

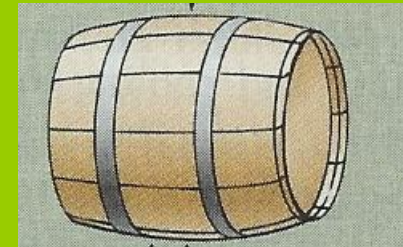
mošt



SO<sub>2</sub>

kvašení

zrání



školení

filtrace

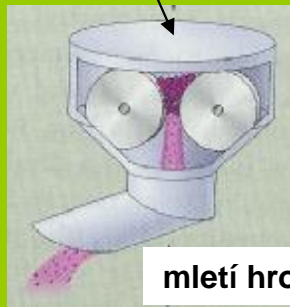
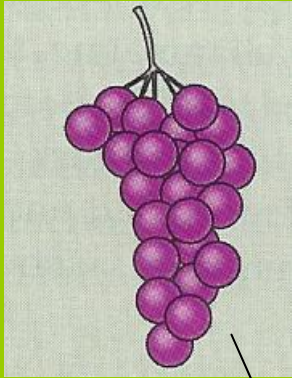
pasterace

Expedice



# Fermentované nápoje

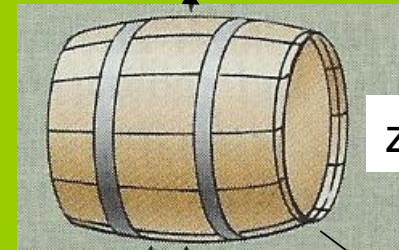
## výroba červeného vína



mletí hroznů



kvašení

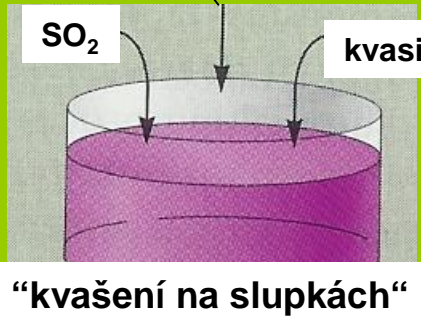


zrání

mošt

lisování

matolína



SO<sub>2</sub>

kvasinky

“kvašení na slupkách”



školení

filtrace

pasterace

Expedice

# Fermentované nápoje

## víno

- přírodní vína suchá
- vína přírodně sladká
- vína dezertní
- vína kořeněná
- vína šumivá
- vína perlivá





# Fermentované nápoje

## víno

- **Vína přírodně sladká**

### **Sauterenské výběry**

typické odrůdy

Sauvignon, Semillon.

“**Roi de vin et vin de rois**“

**Tokajská vína** – pozdní sklizeň, napadená *Botrytis cinerea*. Odrůdy – Furmint, Lipovina, Muškát. Do moštu se přidávají “zhrozinkovatělé“ bobule, 10-12% etanolu, 10-15% cukru.



Suché slovenské tokajské

# Fermentované nápoje

## víno

- **Dezertní vína** (slazená)

***Dezertní vína přislazovaná*** – z běžných vín přidáním hroznů, sacharózy (100-150g/l) a velejmeného lihu, do 15% (Muškátová vína)

***Dezertní vína likérová*** – zkrácením kvašení moštu nebo přidáním koncentrovaného moštu a alkoholu k přírodním vínům (Malaga, Madeira, Sherry, Mersala)

***Dezertní vína kořeněná*** – přírodní vína s přísadkou cukru, alkoholu a výluhu koření (pelyněk, zeměžluč, kořen fialky a angeliky, máta, puškovec, skořice, koriandr, hřebíček muškátový ořech atd. Extrakce – při +50°C ve směsi vína a alkoholu (Vermuty – Cinzano, Martini, Metropol – bílé, červené, hořké bitter a suché). Obsah alkoholu 15-18% obj., 3-15% cukru

# Fermentované nápoje

## víno

- **Dezertní vína likérová**

**Madeira** – maderizace – mladé víno zraje ve velkých sudech v prostorách nazývaných estufas, které ohřívá slunce. Obsah alkoholu 18-20%obj. Může být i směsí několika ročníků.

**Portské** – kvašení ve velkých sudech s přídavkem vinného destilátu (10l na 45 l moštu). Mladé víno se přečerpá do menších sudů, kde “odpočívá” několik měsíců. Sváží se do Vila Nova de Gaia – zrání v 550 l sudech několik let (nejméně 2 roky) – změna barvy - od fialově červené po hnědou. Vína tawny – zrání v sudech 10-xx let → 10 years old, 20 years old, over 40 years old.



# Fermentované nápoje

## víno

- **Dezertní vína likérová**

**Sherry** – mošt do tanků (40000 l) - kvašení *S.apiculata*, *S. cerevisiae* var. *elipsoideus* (cca 10 dní) – stočení do sudů (několik měsíců) dolihování na 15-18%obj. - zrání v sudech z amerického dubu (600 l) naplněných jen do 2/3 objemu

**Sherry** systém solera – mladé víno je v sudech umístěných nad sebou a vzájemně propojených (z posledního se odebere 1/5 objemu a doplní se z předchozího – cesta může trvat i několik let). V každém sudu *S.beticus* - vytváří květ. Úprava – přidání prvotřídního vína a koňaku.



# Fermentované nápoje

## víno

- **Vína šumivá**

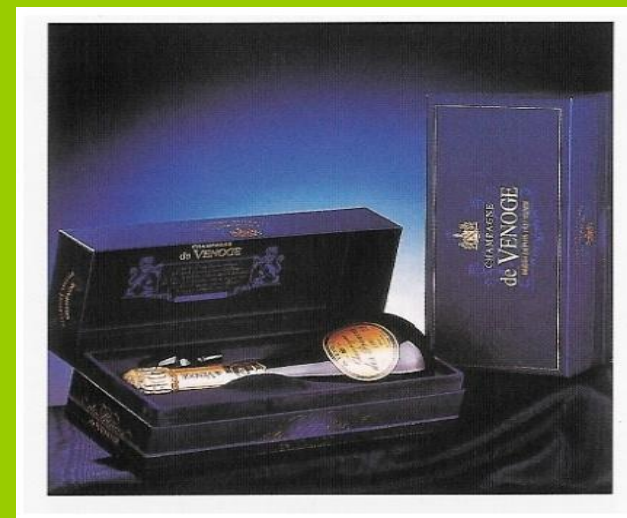
- Klasická technologie

- 1700 Don Perignon

- Odrůdy – Chardonnay,

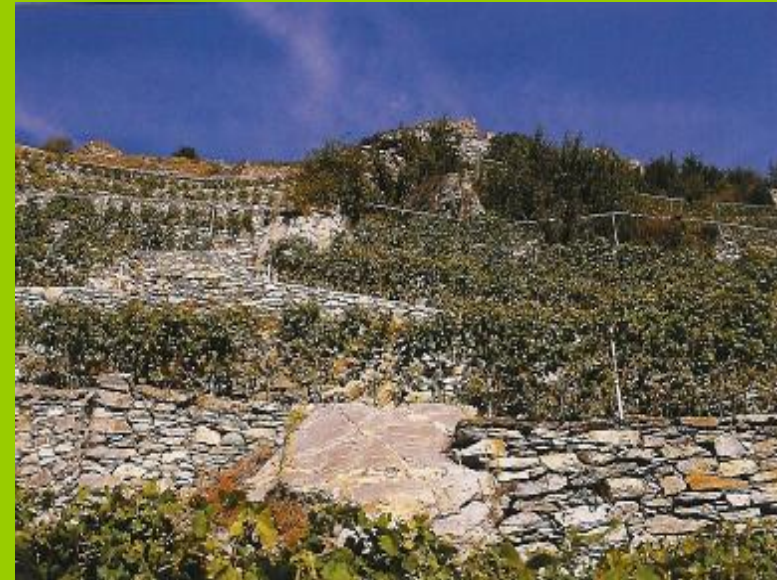
Pinot noir, Pinot meunier

- Klaret +tirážní likér+šampaňské kvasnice do tlustostěnných lahví – kvašení (10°C, půl až 3 roky) – sedimentace kvasinek – degoržování (odstřelení kvasinek) – doplnění dosážním likérem (50% vína, 45% cukru, 5% vinného destilátu) - zrání



# Fermentované nápoje

víno



## Perlivá vína

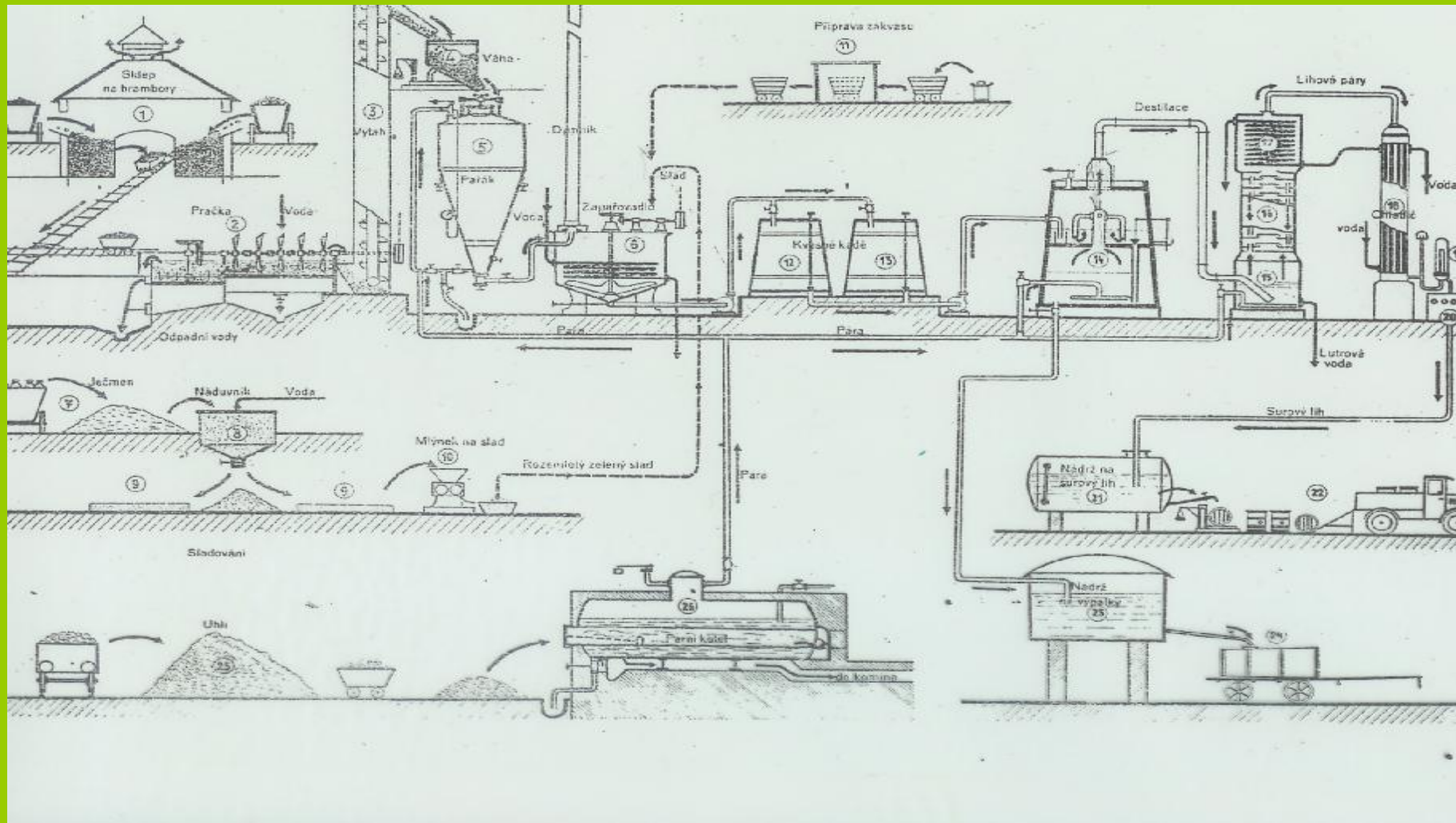
- Nejsou připravována druhotným kvašením
- Sycení vína oxidem uhličitým
- Nedosahují jemnosti a vyrovnanosti chuti
- Vazba oxidu uhličitého na extraktivné složky je velmi labilní

# Fermentační výroba etanolu

- Výroba lihu destilací byla známa více než 2000 let před naším letopočtem
- Ve středověku byl líh řazen mezi základních **5prvků – Země, Voda, Vzduch, Oheň, Líh**
- V lihovarnictví rozlišujeme výrobu :
  - zemědělského lihu** (škrobnaté plodiny - brambory, obilí. Cukerné plodiny – cukrovka, polocukrovka, ovoce)
  - průmyslového lihu** (substrát – melasa, sulfitové výluhy, lignocelulóza – dřevní odpad)

# Fermentační výroba etanolu

Schéma lihovaru





# Fermentační výroba etanolu



# Lihoviny podle původu etanolu

- **Lihoviny vyráběné kvasným pochodem** – etanol vzniká zkvašením sacharidických surovin pro výrobu lihovin. Následující destilací a dalšími úpravami destilátu se získá konečný výrobek, jehož charakter je určen původní zpracovávanou surovinou (slivovice, brandy, koňak, whisky, calvados, ...)
- **Lihoviny vyráběné studenou cestou bez kvašení** – připravují se smícháním jednotlivých složek. Základní surovinou je rafinovaný líh (vyrobený v oddělených lihovarech). Dalšími složkami jsou cukr, ovocné suskusy a šťávy, destiláty, maceráty bylin a drog apod. (vodka, gin, Becherovka, tuzemský rum, ....)

# Lihoviny vyráběné kvasným pochodem



- **Malt whisky** – surovina: ječný slad, při sušení rašelinným kouřem získává typickou kouřovou vůni; zraje 4 a více let v sudech z bílého dubu, vypálených svítiplynem
- **Grain whisky** – surovina: další druhy nesladovaných obilnin a kukuřice; zraje 4 a více let v dubových prožehnutých sudech
- **Bourbon whisky** – surovina: převážně kukuřice; zraje 4 a více let v dubových sudech
- **Ray-whisky** – surovina: žito; zraje 4 a více let
- **Slivovice** – surovina: švestka nebo bluma; zrání několik let v sudech (již po jednom roce žlutohnědé zbarvení), při zrání ve skle bezbarvá. Kvalitní slivovice při nalití do sklenice tzv. *prstýnkuje* (vytváří drobné praménky kondenzujícího alkoholu stékající zpět do sklenice)
- **Brandy** – surovina: víno na pálení; zraje v dubových sudech 4 a více let. U méně kvalitní brandy umělé zestaření a pro zaokrouhlení chuti se přidávají bonifikátory (macerát z rozinek, fíků, ořechů, svatojánského chleba, mandlí, ..). Označení koňak pouze pro produkty společnosti Cognac
- **Pravý rum** – surovina: třtinová melasa a další odpad při výrobě třtinového cukru; zraje minimálně 4 roky. Jemnější jsou pro přímou konzumaci, více aromatické součást receptur značkových lihovin

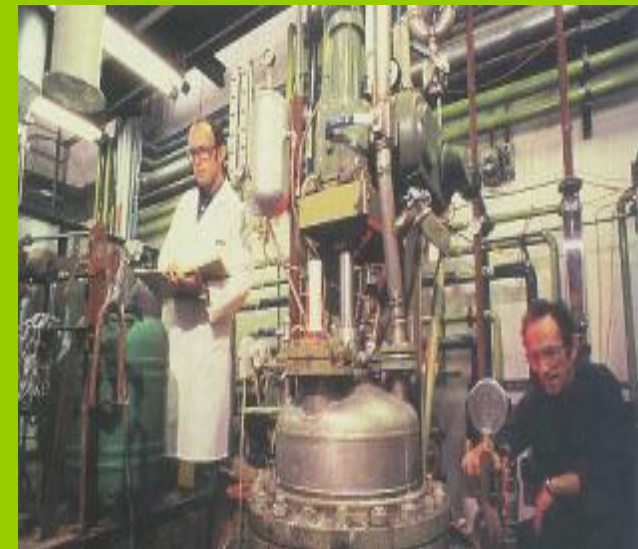
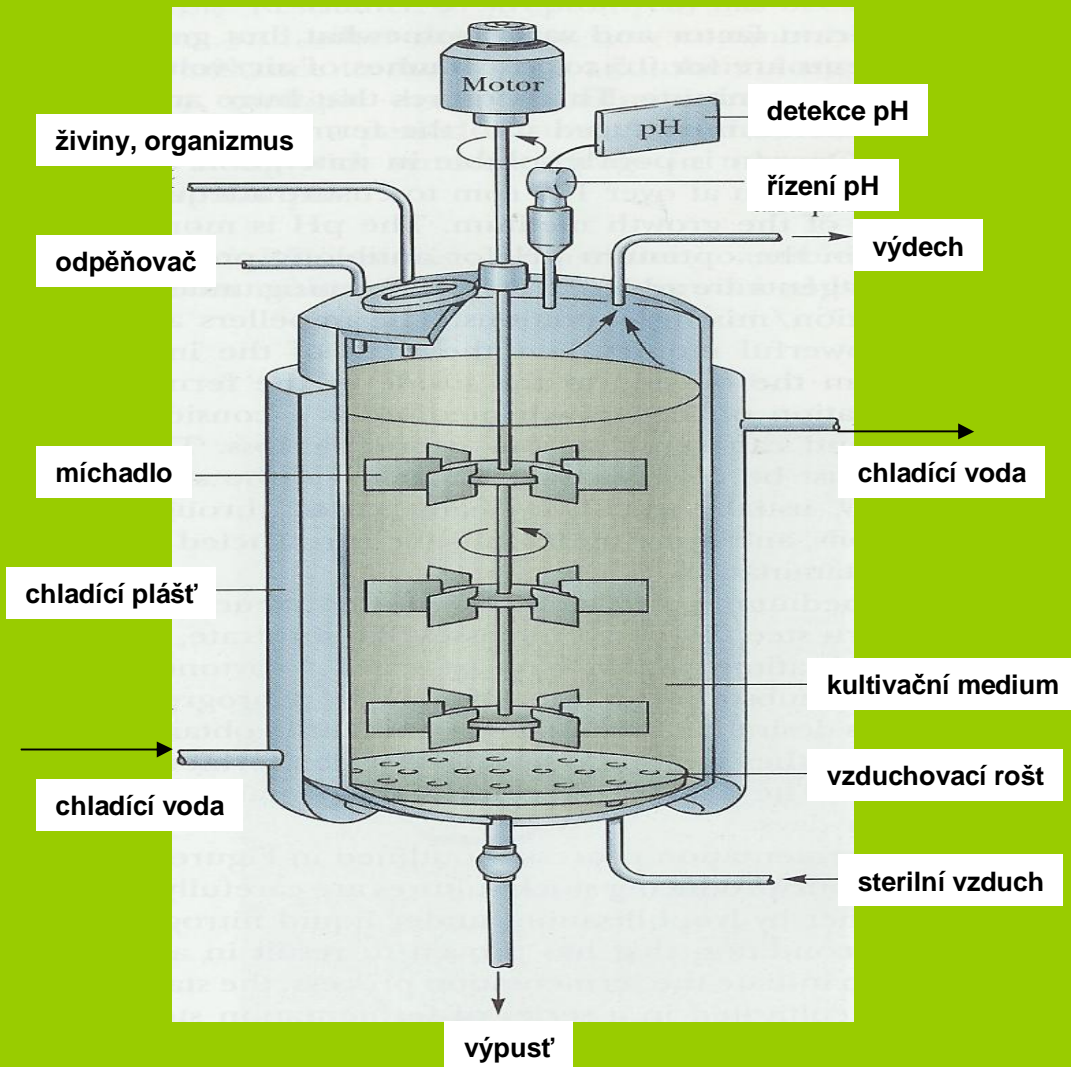
# Produkce antibiotik

- Antibiotika jsou v přírodě se vyskytující látky produkované organismy, které inhibují aktivitu (funkci) jiných organismů, nebo je usmrcují
- Je známo více než 10 000 antibiotik, ale komerčně se využívá asi 100
- Antibiotika jsou sice produkována organismy, ale patří sem i látky syntetické, odvozené na základě přirozených zdrojů
- Některá antibiotika mohou být semisyntetická

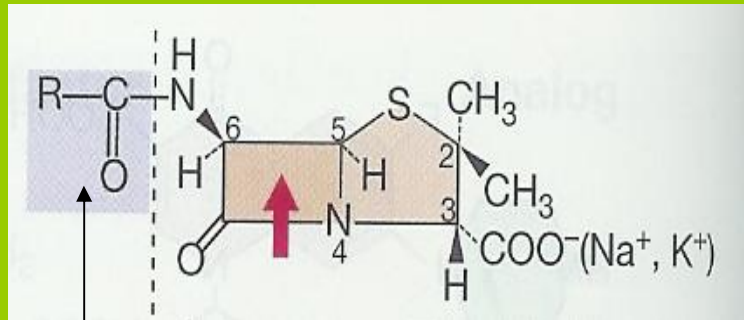
## Některá antibiotika produkovaná mikroorganismy

Penicilin	<i>Penicillium chrysogenum</i>
Bacitracin	<i>Bacillus licheniformis</i>
Chlortetracyklin	<i>Streptomyces aureofaciens</i>
Chloramfenikol	<i>Streptomyces venezuelae</i>
Neomycin	<i>Streptomyces fradiae</i>
Nystatin	<i>Streptomyces noursei</i>
Streptomycin	<i>Streptomyces griseus</i>
Polymyxin	<i>Bacillus polymyxa</i>

# Fermentory pro výrobu antibiotik



# Peniciliny – $\beta$ -laktámová antibiotika

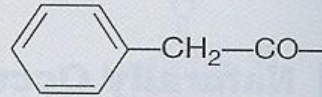


$\beta$ -laktamový kruh    thiazolidinový kruh

6-aminopenicilánová kyselina

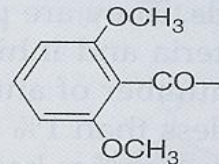
N-acylová skupina

N-acylová skupina

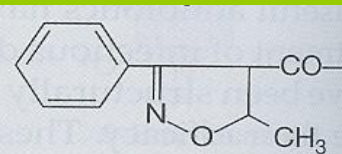


přírodní benzylpenicilin (G-penicilin,  
citlivý k  $\beta$ -laktamáze)

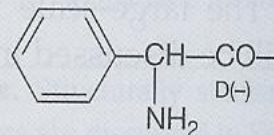
Semisyntetické peniciliny



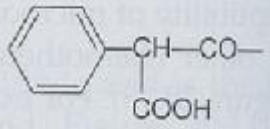
Methicilin (rezistentní k  $\beta$ -laktamáze)



Oxacilin (rezistentní k  $\beta$ -laktamáze)

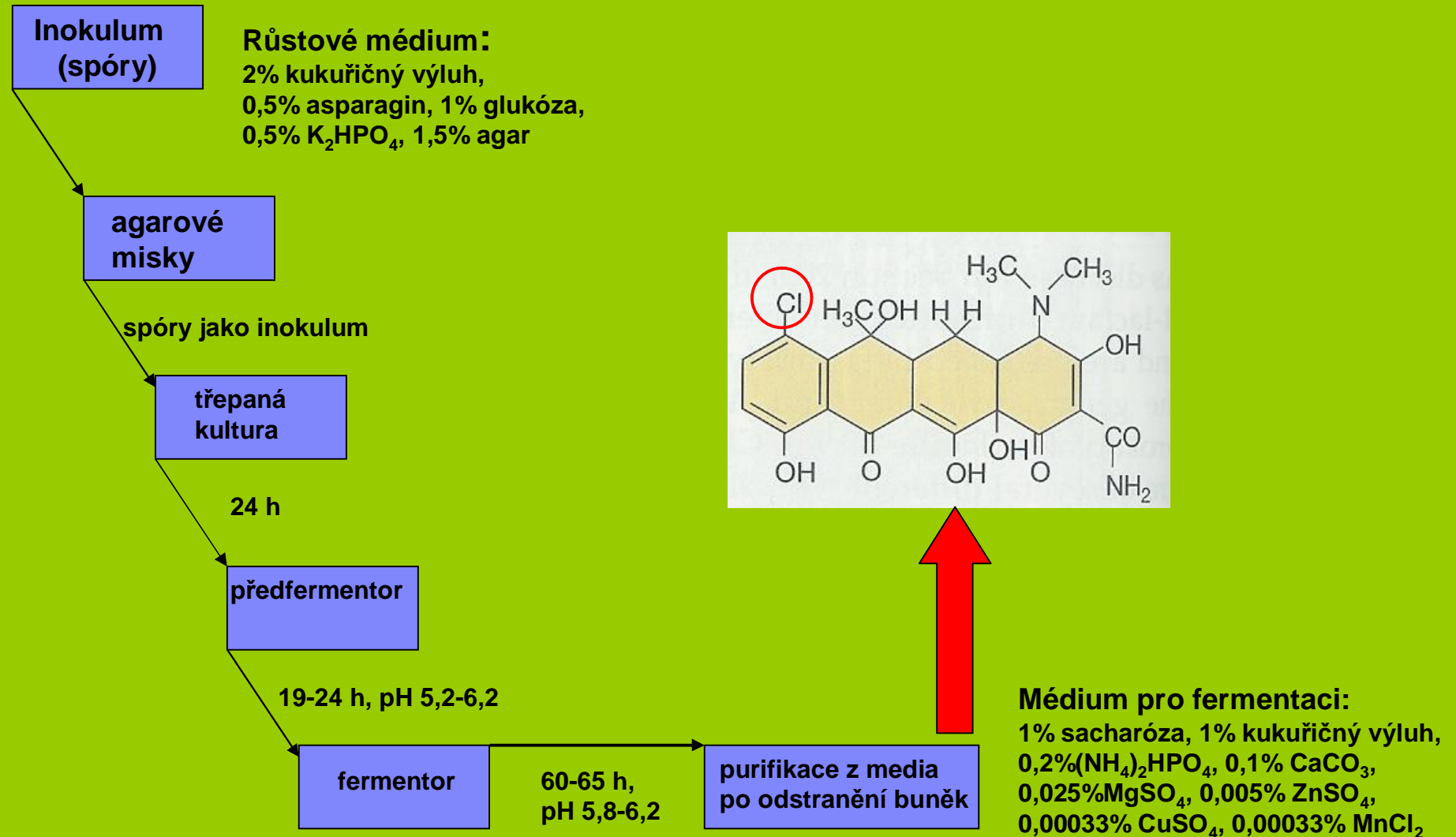


Ampicilin (široké spektrum účinnosti, i  
proti G- bakteriím, rezistentní k  
 $\beta$ -laktamáze)



Cabernicilin (široké spektrum účinnosti,  
i proti G- bakteriím – *Pseudomonas  
aeruginosa*, rezistentní k  $\beta$ -laktamáze)

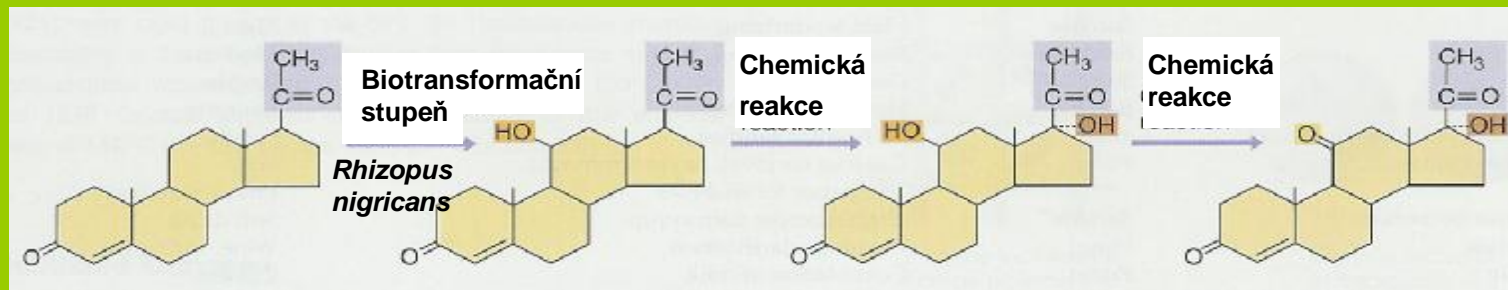
# Produkční schéma na výrobu chlortetracyklinu



# Steroidy a biotransformace

- Steroidy jsou deriváty sterolů, součástí řady hormonů regulujících některé metabolické dráhy. Některé steroidy jsou využívány přímo v terapii
- Steroidy mohou být získávány buď chemickou cestou (což je obvykle finančně nákladné) nebo kombinací chemické cesty a **biotransformace**

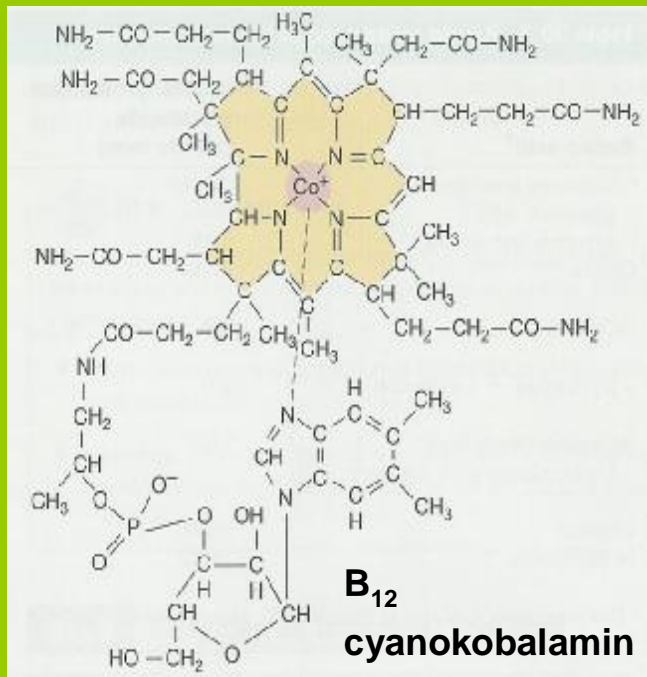
Produkce cortisonu biotransformací *Rhizopus nigricans*



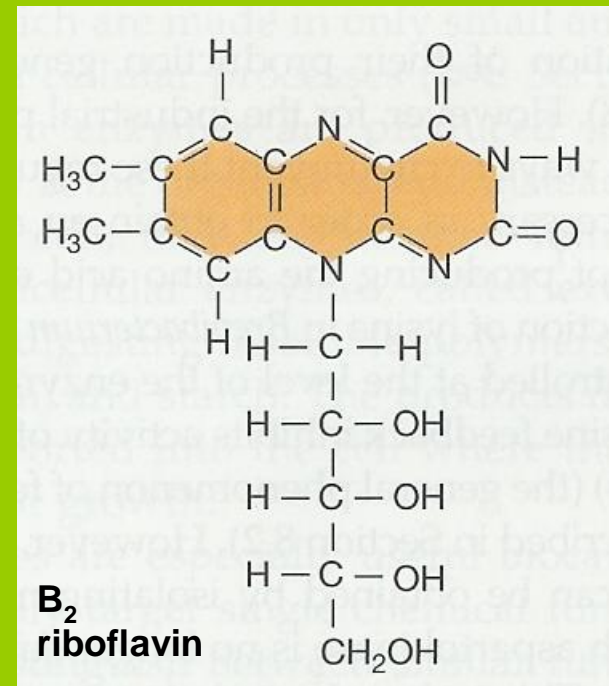


# Vitaminy

Komerčně je vyráběn ve velkém množství především vitamin B<sub>12</sub> a B<sub>2</sub>



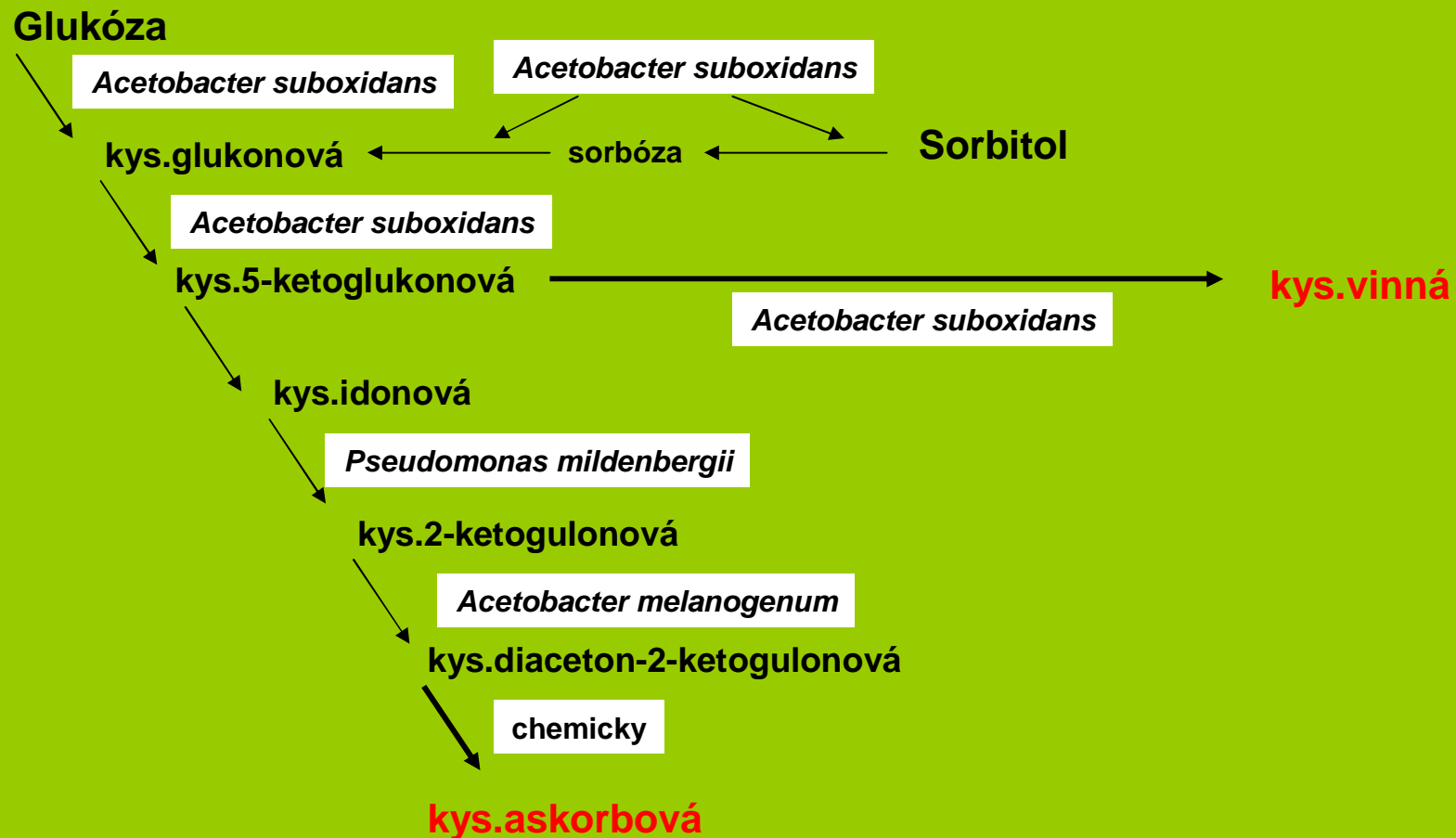
*Propionibacterium freudenrichii*, *Propionibacterium shermanii*, *Protoaminobacter ruber*, *Micromonospora purpurea*, *Streptomyces aureofaciens*, *Streptomyces griseus*



*Saccharomyces cerevisiae*, *Corynebacterium* sp., *Corynebacterium acetobutylicum*, *Candida famata*, *Candida flareri*, askomycety - *Ashbya gossypii*, *Eremothecium ashbyi*

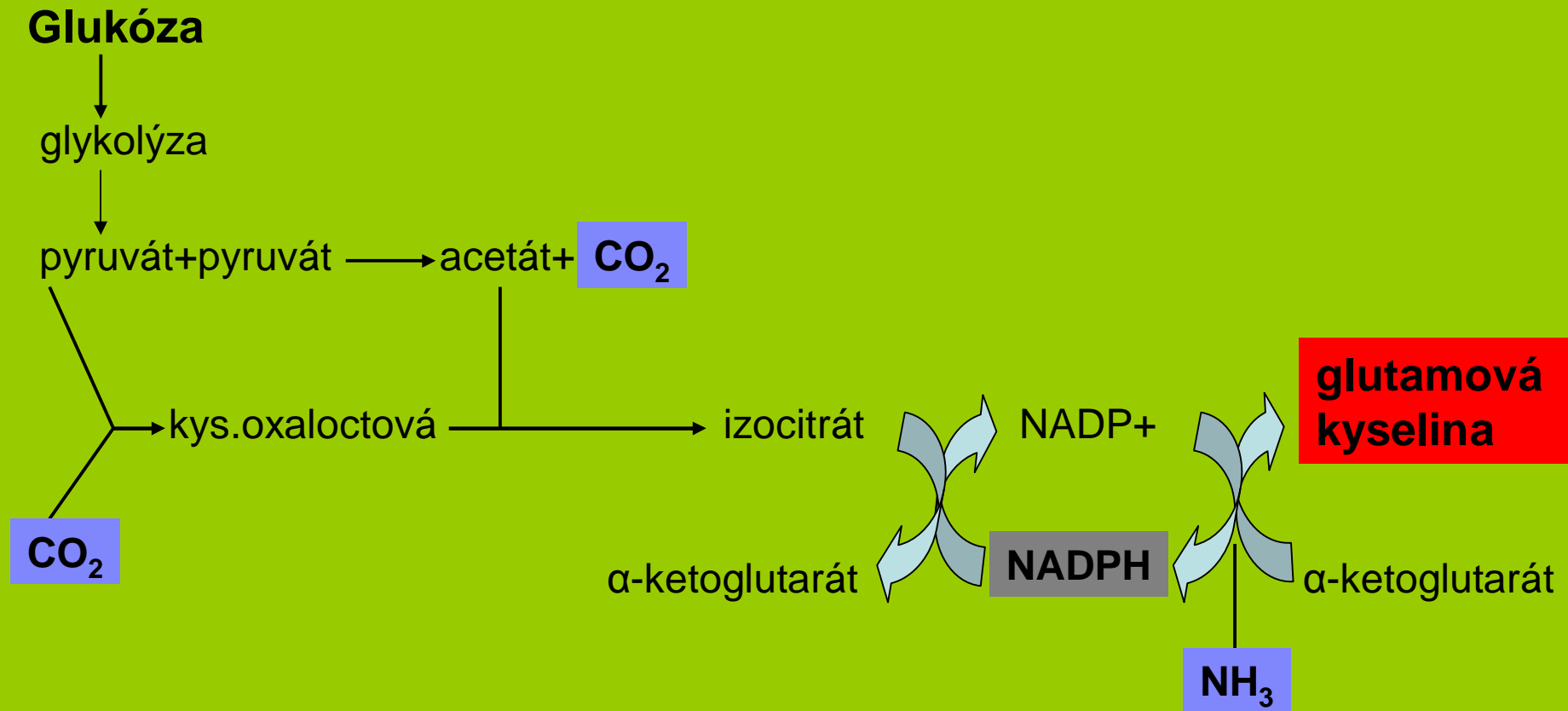
# Vitamins

## Vitamin C (ascorbic acid)



# Aminokyseliny

Základní reakce při syntéze **kyseliny glutamové**



Organizmy:

*Corynebacterium glutamicum*, *Brevibacterium* sp., *Arthrobacter* sp., *Microbacterium*, sp.

# Aminokyseliny

## Komerčně produkované aminokyseliny a mikroorganizmy

Aminokyselina	Organizmus	Průměrný výtěžek g/l	Zdroj uhlíku
Glutamová kyselina	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	>100	glukóza
Lyzin	<i>Corynebacterium</i>	39	glukóza
Lyzin	<i>Brevibacterium flavum</i>	75	acetát
Threonin	<i>Escherichia coli</i> K <sub>12</sub>	55	sacharóza

# Aminokyseliny

## Využití aminokyselin v potravinářském průmyslu

Aminokyselina	Roční produkce t/svět	Použití	Účel
L-glutamát (monosodium glutamát)	370.000	různé potraviny	zlepšení chutě
L-aspartát a alanin	5000	ovocný džus	“zakončení“ chutě
glycin	6000	slazení potravin	zlepšení chutě a aroma; startovací bod pro organické syntézy
L-cystein	700	chléb	zlepšení chutě
L-tryptofan+L-histidin	400	různé potraviny, sušené mléko	antioxidant, doplněk výživy
L-lyzin	70.000	chléb(Japonsko), přísada	doplněk výživy
DL-methionin	70.000	výrobky ze sóji, přísada	doplněk výživy

# Produkce organických kyselin

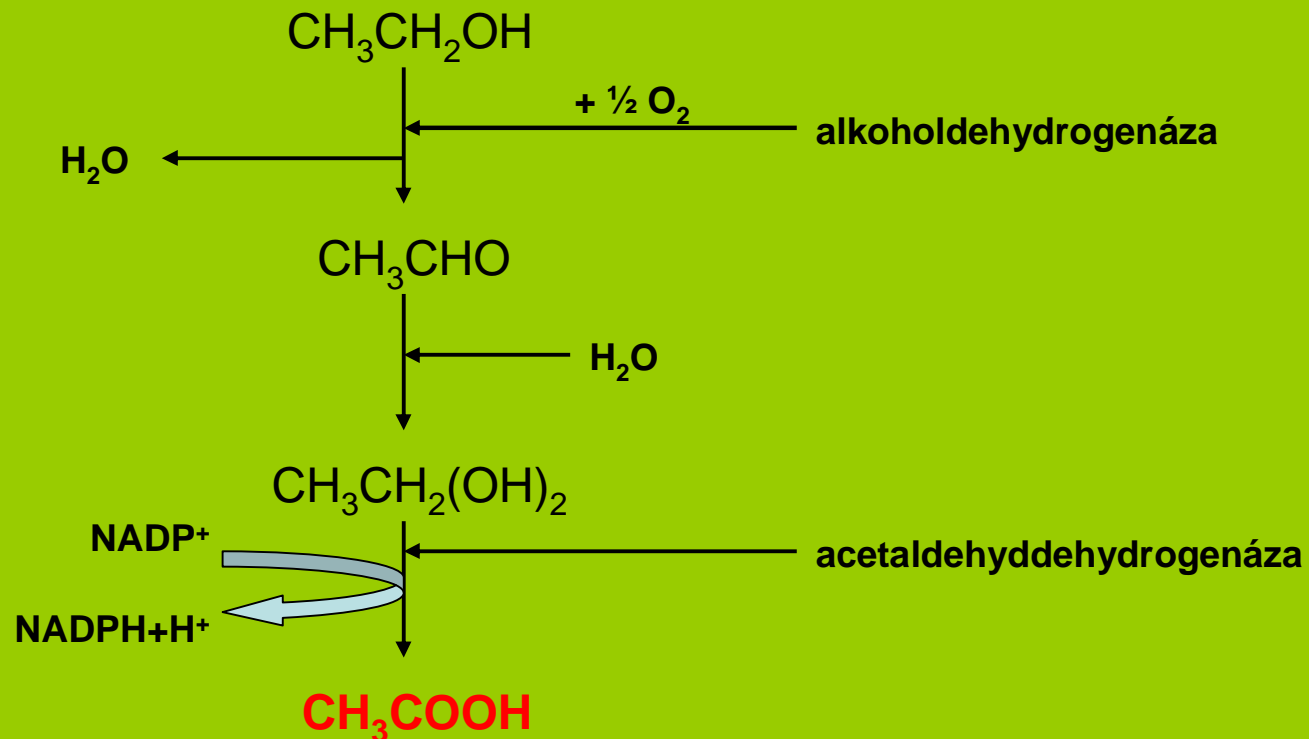
## kyselina octová - ocet

- První zmínky o výrobě octa se objevují asi 10000 let př.n.l.
- O octu jsou zmínky ve Starém i Novém Zákonu
- Pro alchymisty byl ocet jedna z nejvýznamnějších surovin
- Po domácku byl ocet původně připravován “kvašením“ alkoholických nápojů a používal se hlavně jako rozpouštědlo, lék, nápoj, ....
- Mikrobiologickou podstatu přípravy octa popsal v r. 1868 L.Pasteur a potvrdil tak objev Kützinga z r. 1837 (popsal příčinu octového kvašení)
- Rychlý rozvoj výroby octa byl zaznamenán v 19. století, kdy se začal používat jako pochutina k okyselování, kořenění a konzervaci

# Produkce organických kyselin

## kyselina octová - ocet

Schéma oxidace etanolu octovými bakteriemi



Reakce je silně exergonická se silným uvolňováním tepla



# Produkce organických kyselin

## kyselina octová - ocet

- **Komerční ocet** – zředěním kyseliny octové. Ve většině zemí je tento technologický postup zakázán
- **Kvasný ocet** – oxidací substrátů s různým obsahem etanolu
- Základní technologické postupy
  - pomalé octaření* – orleánská metoda
  - rychlé octaření* – německá metoda
  - submerzní fermentace*



# Produkce organických kyselin

## kyselina octová – ocet orleánská metoda



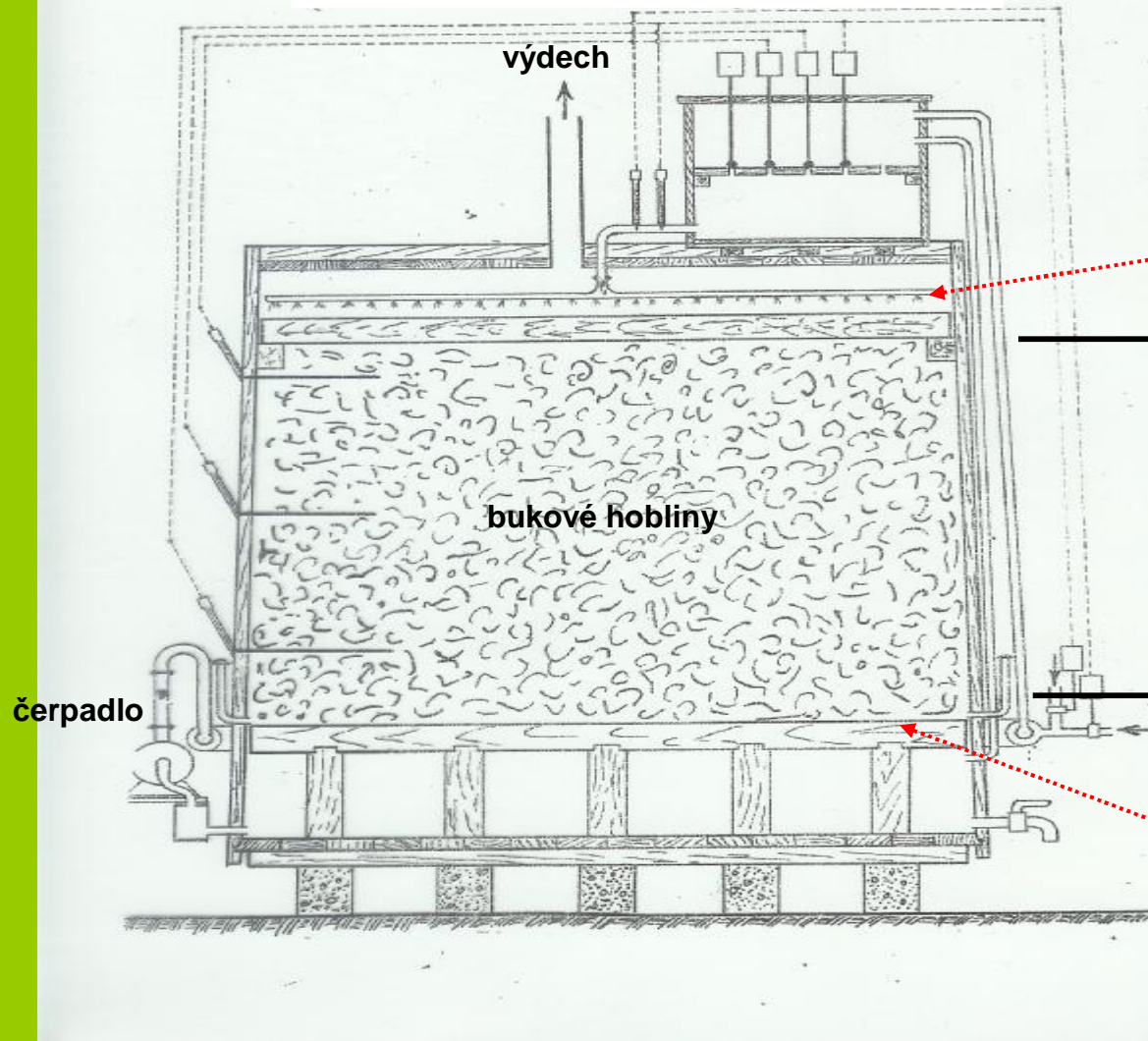
- Kádě nebo sudy z dubového dřeva o bjemu 2-3 hl (poměr šířka:výška = 3:1)
- Ředina – vinný ocet + víno (zpravidla 2:4)
- Doba fermentace cca 5 týdnů, ocet obsahuje asi 6% hm. kyseliny octové a 0,5% zbytkového etanolu. V průběhu fermentace je možné přidávat další etanol.
- Při fermentaci se vytváří mázdra – blanka na povrchu kapaliny, s obsahem octových bakterií
- Po skončení fermentace se většina tekutiny odpustí a přidá se nové víno
- Ocet má velmi příjemné a vyvážené aroma (značný obsah organoleptických látek, vznikajících při procesu)
- Z hlediska současného stavu je tento proces již neekonomický
- Organismus *Acetobacter aceti* subs. *orleansis*

# Produkce organických kyselin

## kyselina octová – ocet

**německá metoda**

**Fringsova velkoocetnice**



Objem dřevěné (dubové nebo modřínové dřevo) velkoocetnice je 500-600hl

**rozdělovací prostor** (nivelační vana – k regulaci průtoku substrátu očetnicí; Segnerovo kolo – rozstřikování substrátu+buňky po povrchu nosiče)

**oxidační prostor** (hobliny nebo jiný nosič sloužící k fixaci produkčních buněk; zde probíhá vlastní proces oxidace etanolu)

**sběrný prostor** (shromažďuje substrát stékající po nosiči, vzduchování vzdušnicím roštem)

# Produkce organických kyselin

## kyselina octová – ocet německá metoda

- Základní surovina – kvasný etanol různé kvality (víno, pivo, zemědělský líh, ..)
- Ředina – 3% etanol + 8% kyseliny octové
- Ředina se napouští do sběrného prostoru a čerpadlem do nivelační vany a Segnerovým kolem ředina skrápí náplň (bukové hobliny, může být i pemza, dřevěné uhlí, koks nebo jiný silně porézní materiál. Regenerace se provádí asi po 5 letech, celková výměna náplně po 20 letech)
- Oxidační prostor - částečně zoxidovaný substrát se jímá ve sběrném prostoru a vrací se zpět do nivelační vany
- Proces se opakuje tak dlouho, až obsah etanolu klesne asi na 0,3%. Vyrobený ocet má cca 11% hm. kyseliny octové
- Proces trvá přibližně týden
- Výtěžnost je asi 90%
- Organismus – *Acetobacter aceti* subsp. *aceti* (důležitá je přítomnost sacharidů v ředině, protože by octové bakterie pokrývaly potřebu uhlíku využíváním etanolu nebo kyseliny octové)

# Produkce organických kyselin

## kyselina octová – ocet

### submerzní metoda

- Ředina – víno, pivo, zemědělský etanol. Připravuje se stejně jako pro rychlé octaření (10%obj. etanolu a 1%hm kyseliny octové)
- Kvašení probíhá v acetátoru (fermentační tank dřevěný, kovový) o obsahu 50-500 hl. **Zásadní** podmínkou je míchání (turbinové míchadlo) a intenzivní vzdušnění (acetátor o kapacitě 300hl vyžaduje  $80 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$  vzduchu)
- Vzdušnění se nesmí v průběhu fermentace přerušit. Po zastavení přívodu vzduchu na 1 min. se fermentace zastavuje (vznik acetaldehydu – důsledek odumření buněk)
- Fermentace je ukončena při poklesu koncentrace etanolu na 0,1-0,3%hm.
- Výkon acetátoru o kapacitě 300 hl je asi 60hl octa za 24 hodin (3x větší výkon než velkoocetnice stejného objemu)

# Produkce organických kyselin

## kyselina octová – ocet

- Úpravy octa
  - Čiření – odstraňování komplexů kovů s bílkovinami (bentonit)
  - Filtrace – odstranění mechanických nečistot (směs bavlna+celulóza, křemelina; ultrafiltrace – mikroporézní membrána, odstraňovány jsou látky o mol.hmotnosti od 100000)
  - Zrání – přefiltrovaný ocet se napouští do dubových kádí, kde zraje asi 3 měsíce (vytváření látek, které dodávají charakteristické aroma, především etylacetát a další)
  - Pasterace a plnění do lahví

# Produkce organických kyselin

## kyselina mléčná

- Z hlediska technologického mají význam především bakterie uskutečňující homofermentativní mléčné kvašení
- Podle vztahu k teplotě jsou využívány termofilní - *Lactobacillus delbreuckii* subsp. *delbreuckii*, *L. delbreuckii* subsp. *bulgaricus*, *L. thermophilus* nebo mezofilní *Streptococcus lactis* a *Pediococcus* sp.
- Bakterie mléčného kvašení vedle zdroje uhlíku vyžadují i dusíkaté látky, částečně jako aminokyseliny, některé vitaminy a minerální látky (především fosfor)
- Na produkční kmeny působí inhibičně i nízké koncentrace volné kyseliny mléčné. Pokles pH na 4,5 fermentaci zastavuje úplně

# Produkce organických kyselin

## kyselina mléčná

- **Technologický postup**
- \* Fermentory o kapacitě 20-100m<sup>3</sup>, mechanicky míchané.
- Substráty – škrobnaté nebo cukerné (melasa, sacharóza, glukóza, bramborový nebo rýžový škrob, rýže, syrovátka). Škrobnaté suroviny musí být nejprve hydrolyzovány (enzymaticky nebo chemicky) - mléčné bakterie nemají amylázy. Počáteční koncentrace sacharidů – 5-15%.
- Vznikající kyselina mléčná je neutralizována přídavkem uhličitanu vápenatého nebo hydroxidu vápenatého
- \* Doba fermentace 2-6 dnů. Výtěžek bývá 90-85%hm. (Vztaženo na počáteční sacharid)

# Produkce organických kyselin

## kyselina mléčná

- Izolace
- Kyselina mléčná je ve získávána o čistotě: technická, potravinářská, farmaceutická
- Ve fermentoru je kyselina mléčná přítomna ve formě mléčnanu vápenatého. Ten se zahřátím převede do roztoku.
- Odfiltrování mechanických nečistot a bakterií
- Přidání kyseliny sírové kyselina mléčná + sádra, která se od roztoku oddělí
- Odstranění barevných látek na aktivním uhlí. Další purifikační kroky (ionex, elektrodialýza, extrakce rozpouštědly,...)



# Produkce organických kyselin

## kyselina mléčná

- \* *Komerční využití kyseliny mléčné*
- Potravinářská (60% roztok) – má velmi jemné příjemné aroma – při výrobě ovocných šťáv, sirupů, cukrovinek (nahrazuje kyselinu citrónovou), ke konzervaci (zeleniny, ovoce, ryby)
- V chemické výrobě – příprava kyseliny akrylové – výroba plexiskla a plexigumy
- V koželužství – dekalcinace kůží
- V barvířství – jako mořidlo
- Ve farmaceutickém průmyslu – Ca, Fe soli (vysoká čistota obsah více než 90%)

# Produkce organických kyselin

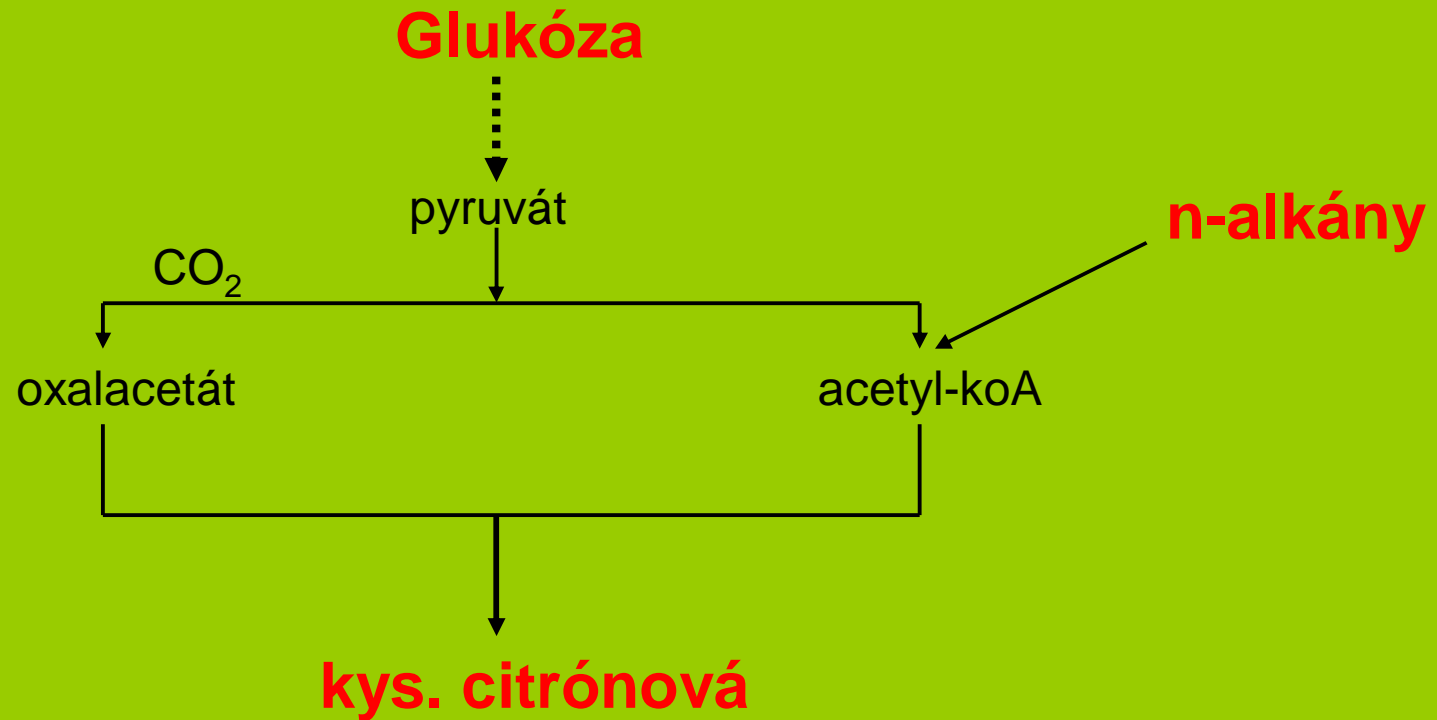
## kyselina citronová

- Izolace kyseliny citrónové z citronové šťávy r.1784  
Scheel
- První komerční výroba kys. citrónové z citrónové šťávy v  
r.1826 Sturge (Anglie)
- V r. 1893 (Wehner) zjištěna při produkci kyseliny  
šťavelové *Penicilium glaucum*
- Záhorský v r. 1913 získal patent na produkci kys.  
citrónové *Aspergillus niger*
- Podklady pro průmyslovou výrobu s produkčním  
kmenem *Aspergillus niger* – J. Currie v r. 1917
- První otevření výroby r.1928 - Kaznějov u Plzně, Belgie,  
USA, Anglie

# Produkce organických kyselin

## kyselina citrónová

Velmi zjednodušené schéma biosyntézy kys. citrónové



U produkčních kmenů se dosáhlo nadprodukce kys. citrónové cílenými mutacemi, které měnily aktivitu enzymů Krebsova cyklu (vysoká – u enzymů tvořících kys. citrónovou, nízká – u enzymů odbourávajících)

# Produkce organických kyselin

## kyselina citrónová

- Výroba probíhá za aerobních podmínek
- Důležitá je přítomnost stopových prvků – Fe, Zn, Cu, Mn
- Produkce je těsně spojena s pH – při pH <2 silná produkce kys. citrónové;  
>3 nadprodukce kys. oxalové a glukonové
- Technologické postupy :
  - povrchová fermentace
  - submerzní fermentace

# Produkce organických kyselin

## kyselina citrónová

### povrchový způsob

- Proces probíhá v nerezových vanách umístěných v klimatizovaných komorách ve sterilním mediu (melasa, ..) + spóry *Aspergillus niger* + kys. fosforečná
- Kys. fosforečná by měla být vyčerpána do skončení tvorby mycelia. Teprve potom dochází k syntéze kys. citrónové. Pokud je koncentrace fosforu vysoká, tvoří se mycelium, ale ne kys. citrónová
- Doba fermentace 8-9 dní
- Medium obsahuje asi 10%hm. kys. citrónové

# Produkce organických kyselin

## kyselina citrónová

### submerzní způsob

- Fermentace probíhá v uzavřených fermentorech za intenzivního míchání, aerace a regulace teploty
- Růst, povaha a produkce se reguluje vhodným nastavením složení média (zejména koncentrace P, Fe, Mn), hodnota pH, způsob aerace a míchání
- Maximální produkce je při  $\text{pH} < 2$
- Organizmy: dříve - *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp.;  
nyní - *Aspergillus niger*,  
*Aspergillus wentii*, *Aspergillus clavatus*,  
*Botrytis cinerea*, *Mucor piriformis*,  
*Trichoderma viridae*, *Arthrobacter* sp.,  
*Candida tropicalis*, *Yarrowia lipolytica*



# Produkce organických kyselin

## kyselina citrónová

- **Izolace**

Filtrace – oddělení mycelia od kultivačního média

Promytí mycelia

Filtrát – srážení kyselin vápenným mlékem za horka při pH 5,8

Odfiltrování vysráženého citranu vápenatého

Přidání kyseliny sírové – volná kyselina citrónová + sádra

Sorbce na aktivním uhlí – odstranění doprovodných látek

Ionex + zahuštění + krystalizace

# Produkce organických kyselin

## kyselina citrónová

- Využití
- V potravinářském průmyslu (výroba cukrovinek, nealkoholických nápojů, ovocných šťáv (podporuje účinek antioxidantů, zpomaluje degradaci vitaminů a aromatických látek), konzervační prostředek
- Farmaceutický průmysl – stabilizátor vitamínu C, součást efervescentních přípravků
- Technicky – výroba detergentů – nahrazuje fosfáty



# Produkce biopolymérů

## exopolysacharidy

- Mikrobiální polysacharidy se uplatňují nejen ve farmacii, a potravinářském průmyslu, ale i v geologickém průzkumu, průmyslu nátěrových hmot a textilním průmyslu
- Mikrobiální
  - homopolysacharidy** – jsou tvořené jedním typem sacharidové jednotky (glukany, manany, dextransy)
  - heteropolysacharidy** jsou tvořené komplexy vysokomolekulárních větvených struktur obsahujících tři a více typů monosacharidů (glukomanany, galaktomanany)
- Exopolysacharidy mimo sacharidové jednotky obsahují také uronové kyseliny (kys. glukuronová), acylové skupiny (acetát, mravenčan, pyruvát) nebo anorganický fosfát

# Produkce biopolymérů

## exopolysacharidy

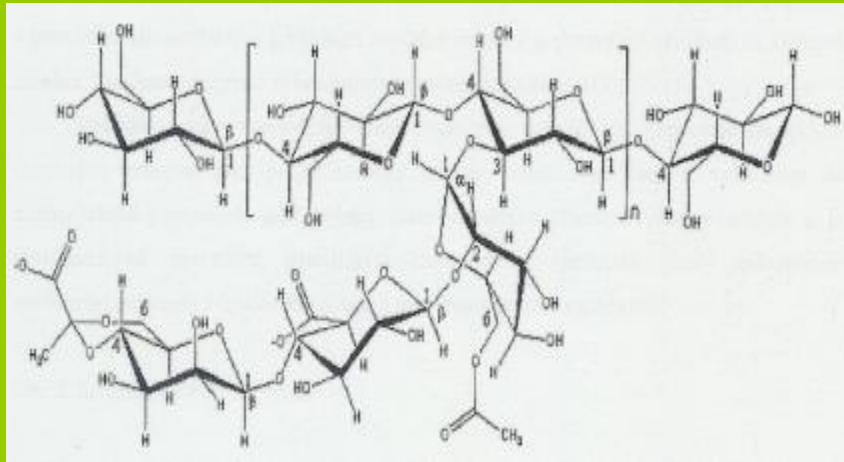
### xantan

- Xantan je produkován zástupci rodu *Xantomonas* (*X.campestris*)
- Průmyslová výroba fa Merck 1963
- Patří mezi hydrokoloidy (látky vázající vodu) – používá se jako zahušťovadlo roztoků na vodní bázi a dále jako stabilizátor
- V potravinářském průmyslu se využívá při výrobě (používá se pod názvem xantanová guma):
  - salátové tekoucí dressingy, masové šťávy a omáčky, masné produkty (šunka, drůbež), zmrzliny, nápoje – džusy, cukrovinky, pečivo, zejména litá těsta a některé speciální výrobky: palačinky a lívance, muffins, biskvity, nízkokalorické chleby a pečivo, bezlepkové výrobky, mražené a chlazené pečivo. Finální výrobky zůstávají déle čerstvé, křehké a mají zpomalené vysychání (tvrdnutí).

# Produkce biopolymérů

## exopolysacharidy

### xantan

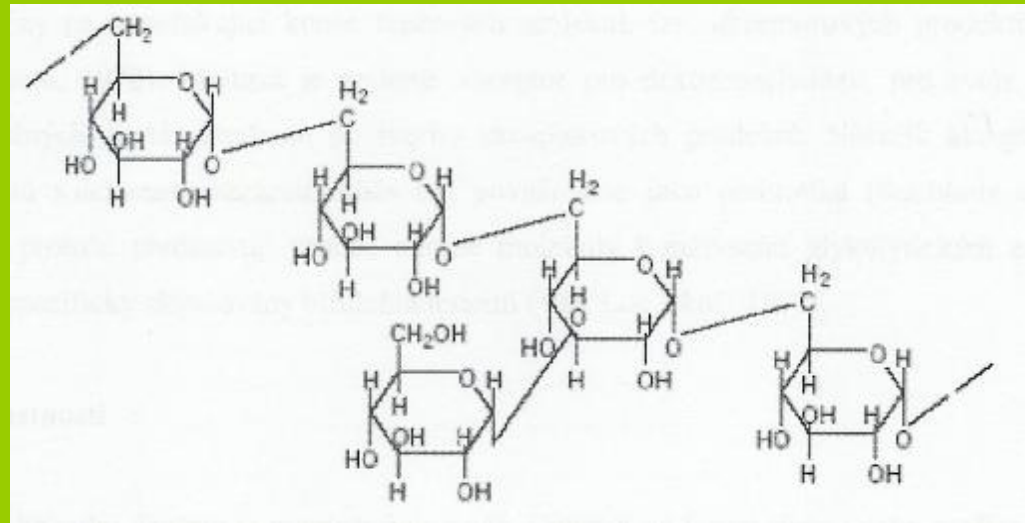


- Je ideální jako stabilizátor pro zubní pasty a gely nebo ve farmaceutických přípravcích
- V průmyslu xantan využívá jako stabilizátor rozstříkovaných látek, stabilizuje vodou ředitelné barvy, přísada do keramických glazur, ...
- Využívá se i v mléčných náhražkách pro telata a selata nebo při výrobě šťavnatých krmiv pro domácí mazlíčky

# Produkce biopolymérů

## exopolysacharidy

### dextran



- Producent – *Leuconostoc mesenteroides*
- Dextran je polymer  $\alpha$ -D-glukózy. Řetězec může být větvený. Některé kmeny produkují dextran s heterogenními vlastnostmi
- Mechanismus syntézy dextranu je dosud nejasný

# Produkce biopolymérů

## exopolysacharidy

### dextran

- Komerční využití
  - Výchozí materiál pro výrobu biologicky odbouratelných polykationtů a polyaniontů – využití ve fotografickém a kosmetickém průmyslu, při čištění vod, v zemědělství
  - Přísada pro stabilizaci mražených mléčných produktů
  - Použití jako stabilizátoru při výrobě hotových jídel (z masa, zeleniny, ryb)
  - V cukrovinkách zabraňuje krystalizaci, zvyšuje viskozitu, udržuje vůni
  - V poslední době se hodně používá při výrobě nealkoholických nápojů, aromatických výtažcích a polev

# Produkce enzymů



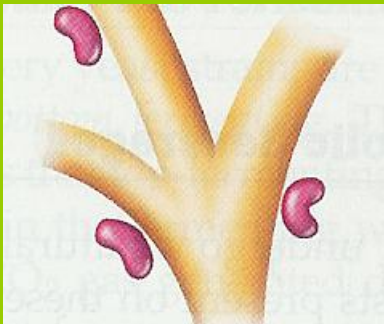
Organizmy produkují širokou škálu enzymů, ale jen v malém množství – “pro potřebu buňky“. Některé organizmy jsou však schopné produkovat určité typy enzymů ve větším množství. Zásahem z vnějšku nebo mutací je možné dosáhnout u těchto organizmů nadprodukce enzymů a to jak intracelulárních, tak i extracelulárních. V současné době jsou enzymy intenzivně využívány i komerčně. Nejčastěji se s nimi setkáme v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Svoje místo mají i v kožedělném průmyslu a při výrobě detergentů. Výhodné je i jejich využití v analytice – enzymové elektrody

# Produkce enzymů

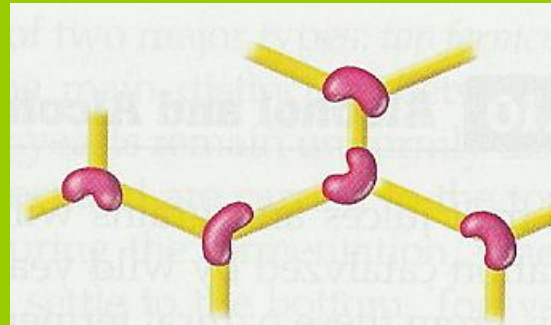
Enzym	Zdroj	Aplikace
Amyláza	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus diastaticus</i> <i>Aspergillus niger</i>	v potravinářství (výroba piva, etanolu, pekárenský průmysl)
Proteáza	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus flavus</i>	v potravinářství (pekařství- zkracují přípravu těsta, sýrařství – sýřidlo), krmivářství(zvýšení účinnosti výkrmu), kožedělném průmyslu (úprava usní), výroba pracích prášků, doplněk stravy
Glukózaoxidáza	<i>Penicillium notatum</i> <i>Aspergillus niger</i>	odstraňování glukózy, testovací proužky pro diabetiky
Lipáza	<i>Micrococcus</i>	výroba sýrů, potravinový doplněk

# Produkce enzymů

V některých technologických postupech se mohou používat enzymy, nebo mikrobiální buňky, opakovaně. V těchto případech je ekonomicky výhodné navázat enzymy nebo buňky na nosič – **imobilizované enzymy, imobilizované buňky**. Vazba na nosič mimo jiné i enzym stabilizuje a omezuje negativní působení na reakci. Některé reakce mohou probíhat kontinuálně.

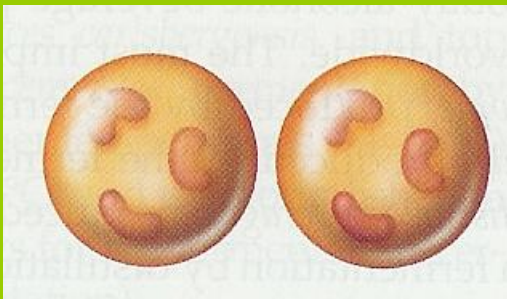


Vazba enzymu na nosič (adsorbce, iontová nebo kovalentní vazba; nosič – modifikovaná celulóza aktivní uhlí, pemza, upravený polystyren, ..)



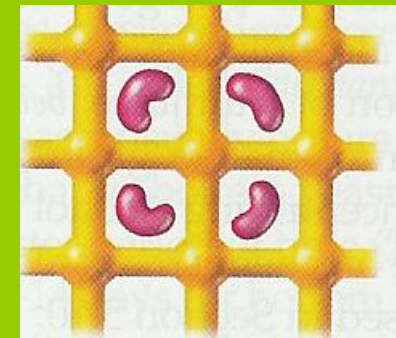
Polymerizace“ enzymu“ (enzym amino skupinou se chemicky váže na glutaraldehyd)

## Mikroinkapsulace



uzavření enzymu do mikrokapsuly z polymerního materiálu

nebo fibrozních polymérů (např. acetátcelulóza)





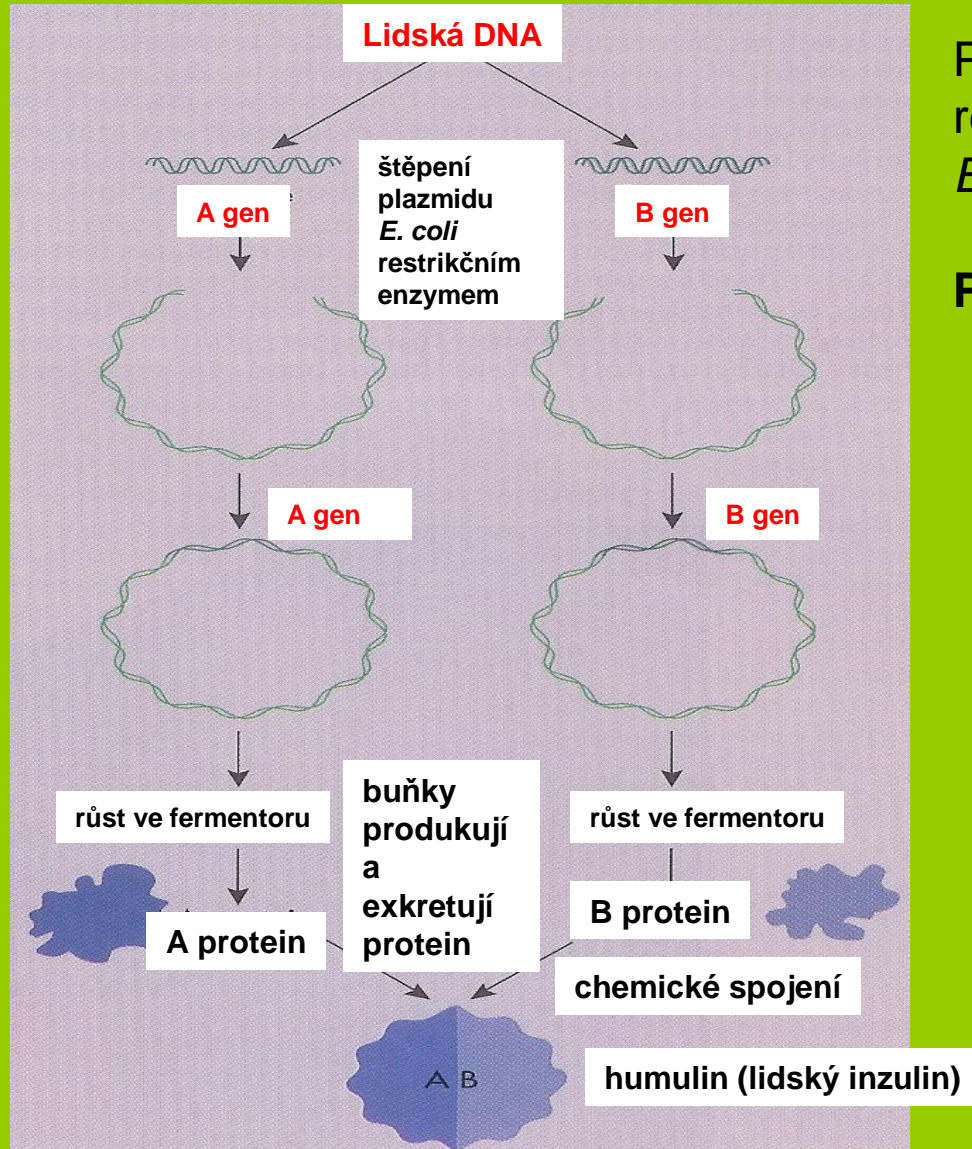
# Příprava lidských proteinů

- Díky své schopnosti metabolizovat nejrůznější substráty jsou bakterie a kvasinky tradičně využívány k přípravě pokrmů a nápojů. Metody genového inženýrství umožňují nejen upravovat jejich metabolické dráhy, ale otevřely i cestu k jejich využívání pro přípravu **cizorodých produktů**, které jsou běžně vytvářeny rostlinami nebo živočichy včetně člověka.
- Při vnášení genů z vyšších organismů (rostlin nebo živočichů) do bakterií s cílem dosáhnout tvorby cizorodého produktu je obvykle nutné cizí gen nejdříve vhodně pozměnit. Bakterie mají odlišné regulační oblasti, které jsou nezbytné pro to, aby se jejich geny v buňce projeví. Geny přenesené do bakterií z vyšších organismů v nich proto nejsou obvykle aktivní, ale musí se “upravit”.
- Řešením je připojení cizích genů ke genům bakterií, nebo začlenění cizího genu přímo do genu bakteriálního, což vede k vytvoření **chimérických produktů**, z nichž se dodatečně bakteriální část odštěpí.

# Příprava lidských proteinů

- Pro docílení úspěšné exprese eukaryotických genů v bakteriích se musí nejdříve vytvořit v laboratoři **genový konstrukt (transgen)**, který bude v bakteriích fungovat stejně dobře jako v buňkách původního organismu - **optimalizace genové exprese**. Po vytvoření se genový konstrukt vnese do produkčního kmene
- První produkty připravené metodami genového inženýrství v geneticky pozměněných bakteriích byly **lidský inzulin (1982) a růstový hormon**, které lze díky jejich jednoduché struktuře připravit v bakteriích v aktivní formě

# Příprava lidských proteinů

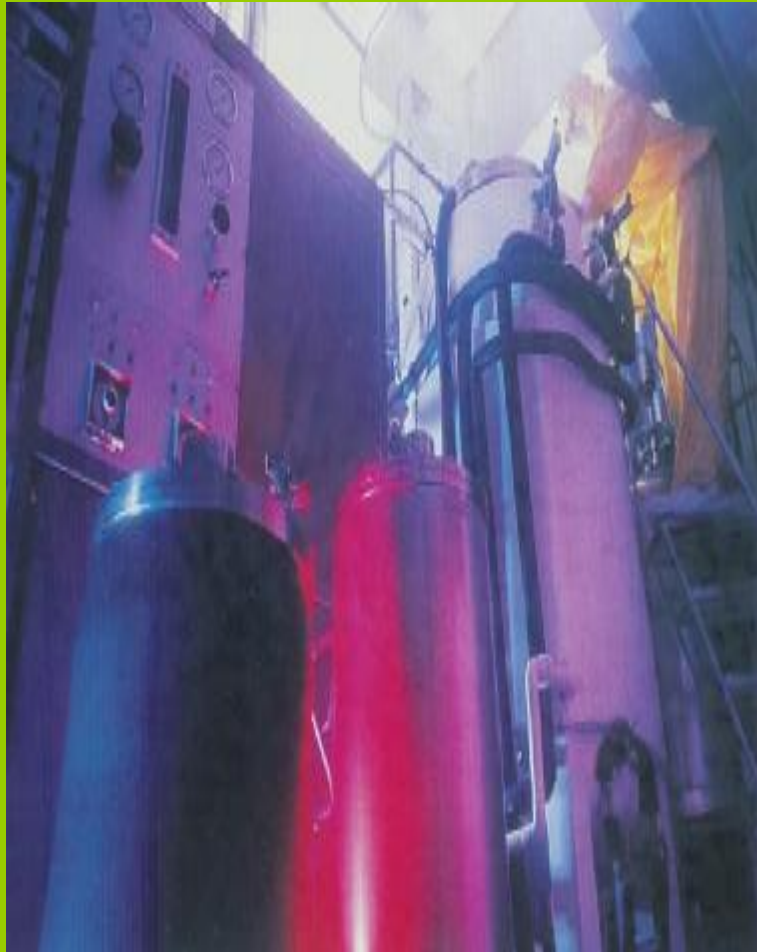


Produkce lidského inzulinu  
rekombinantními kmeny  
*Escherichia coli*

**Příprava produkčního kmene**

Za optimálních podmínek může inzulin představovat až 20% celkové hmotnosti bakteriální buňky

# Příprava lidských proteinů



Fermentory na "výrobu" inzulinu



Buňky *E.coli* obsahující lidský interleukin



# Příprava lidských proteinů

- Bakteriální buňky jsou sice výbornými producenty cizorodých bílkovin, ale jejich posttranslační úpravy jsou jiné nežli u eukaryot. Proto se ve větší míře začíná využívat kvasinkovitých organizmů
- Mezi kvasinkami zaujímá přední místo *Pichia pastoris*, která je málo náročná na kultivační prostředí. Jako zdroj uhlíku a energie je možné používat metanol. Proto složení media je jednoduché a také izolace produktů vyžaduje malý počet purifikačních kroků
- Hlavní předností *P.pastoris*, oproti bakteriálním expresním systémům, je schopnost provádět posttranslační modifikace typické pro vyšší eukaryota, jako je vytváření signálních sekvencí (pre i prepro typ), ohýbání, tvorba disulfidických vazeb, určité typy adicí, glykozylace

# Některé heterologní proteiny produkované *P. pastoris*

## Bakterie

*Bacillus licheniformis*  $\alpha$ -amyláza  
*Clostridium botulinum* neurotoxin  
*Escherichia coli*  $\beta$ -galaktozidáza  
*Escherichia coli*  $\beta$ -laktamáza  
*Staphylococcus aureus*  
stafylokináza, ...

## Houby

*Aspergillus fumigatus* kataláza  
*Aspergillus niger* fytáza  
*Candida rugosa* lipáza  
*Geotrichum candidum* lipáza  
*Rhizopus oryzae* lipáza  
*Saccharomyces cerevisiae* invertáza  
*Schizophyllum commune* vitamin B2  
*Trametes versicolor* lakáza, ....

## Obratlovci

Bovinní enterokináza, boviní lysozym c2, boviní opsin,  
boviní trypsin, boviní  $\beta$ -laktoglobulin, boviní  $\beta$ -  
kasein, myší endostatin, krysí acetylcholinesteráza, ...

## Člověk

endostatin, fibrinogen, inzulin, interleukin, sérový  
albumin, throbomodulin, růstový faktor, ...

do roku 2000 to bylo více než 80 heterologních proteinů

# Výroba potravinářské a krmné biomasy – **SCP** (single cell proteins)

- Mikrobní biomasa má sloužit především jako zdroj bílkovin, vitaminů, fosfolipidů atd.
- Cílem je získat produkt s vysokým obsahem požadované složky – především bílkoviny. Dříve se propagovala tam, kde nebyla dostupná jiná bílkovina. V takovém pojetí se jeví jako ekonomicky nezajímavá a nemůže konkurovat např. sojové bílkovině
- Ekonomicky schůdné je však komplexní využití vyprodukované biomasy. Jednotlivé produkty mohou potom nalézt uplatnění ve výživě, zdravotnictví, zbytky pro přípravu krmiv atd.

# Výroba potravinářské a krmné biomasy – SCP (single cell proteins)

- Klasickým organizmem je *Saccharomyces cerevisiae* (pekařské droždí)
- Pro potravinářské účely se kultivovala na melase a sušila se při vyšších teplotách (biomasa nebyla aktivní). Sušená biomasa se používá jako přísada do polévek, omáček, masných výrobků,...
- Pro krmivářské účely se využívá *Saccharomyces* ojedinele (většinou ke zkrmení nekvalitního droždí)



# Výroba potravinářské a krmné biomasy – SCP (single cell proteins)

- Vedle *Saccharomyces* se v současné době využívají kmeny rodu *Candida*. Většina používaných kmenů produkuje minimálně 50% bílkovin v sušině. Tyto kmeny jsou výhodnější i svými menšími nároky na výživu a tolerují media s vyšším obsahem solí
- *Candida utilis*, *Candida tropicalis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida robusta*, *Candida scottii*, *Candida ingens*, *Candida crusei*, *Candida mogii*, *Candida boidinii* a další
- Ostatní kvasinkovité mikroorganismy jako *Yarrowia lipolytica*, *Hansenula anomala*, *Hansenula polymorfa*, *Hansenula capsulata*, *Pichia pastoris* a další
- V některých speciálních případech jsou využívány i bakterie *Methanomonas methanica*, *Pseudomonas methanica* (při výrobě biomasy ze zemního plynu)

# Výroba potravinářské a krmné biomasy – SCP (single cell proteins)

## Substráty pro přípravu SCP

- Melasa – v současné době jen ve výjimečných případech
- Lihovarské výpalky
- Sulfitové výluhy (po výrobě celulózy) nebo hydrolyzáty dřeva
- „Citrolouhy“ (po výrobě kyseliny citrónové)
- Syrovátka a další “odpady“ z potravinářské výroby, případně zemědělství
- n-alkány
- Etanol, metanol – mohou být připraveny velmi čisté a získané SCP je nejvyšší kvality
- SCP (bakterie, kvasinky) obsahuje 70-80% hm. čistých bílkovin
- Mikrobiální biomasa se vyznačuje dost vysokým obsahem nukleových kyselin (především RNA). Jejich obsah je v korelaci s obsahem bílkovin a pohybuje se v rozmezí 8-15% sušiny. Maximální denní dávka pro člověka je 2g nukleových kyselin, což odpovídá asi 20g mikrobiální biomasy

# Biologické čištění odpadních vod



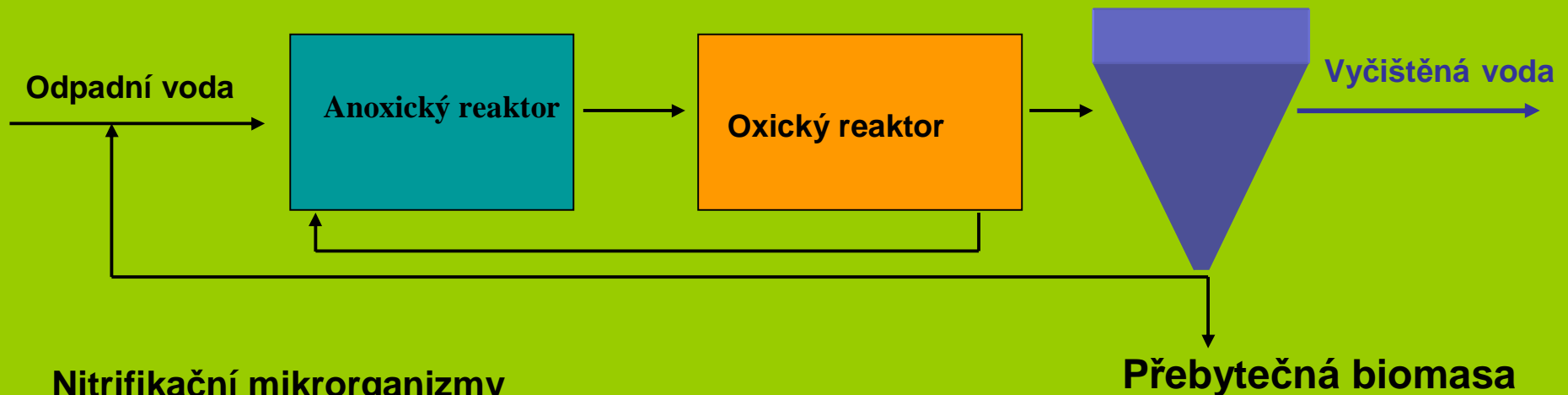
Na biologickém čištění v aerobní části se podílí 200 t a v anaerobní stabilizaci kalu části 45 t mikroorganismů

# Biologické čištění odpadních vod





# Biologické odstraňování dusíku



## Nitrifikační mikroorganismy

*Nitrospira, Nitrosoccus, Nitrosomonas, Nitrobakter sp.*  
 $\text{NH}_4 \longrightarrow \text{NO}_2^- \longrightarrow \text{NO}_3^-$

Denitrifikační mikroorganismy  $\text{NO}_2^-, \text{NO}_3^- \longrightarrow \text{N}_2$

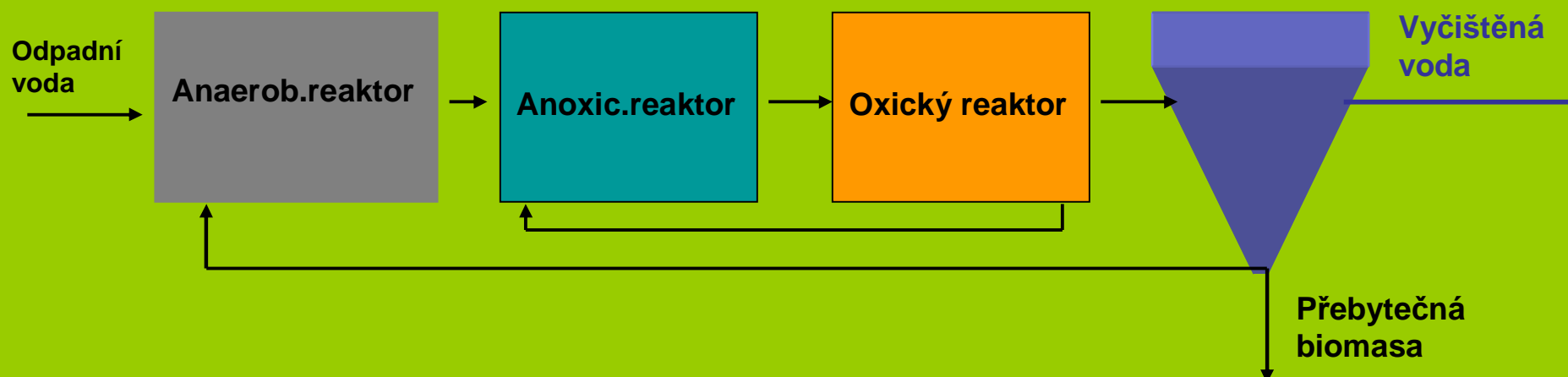
Heterotrofní:

*Pseudomonas, Alcaligenes, Bacillus, Achromobakter, Hydrogenomonas aj.*

Chemolitotrofní:

*Thiobacillus, Nitrosomonas aj.*

# Schéma biologického odstraňování fosforu



## Heterotrofní bakterie

s možností akumulovat fosfor ( $\text{PO}_4^{3-}$ )

označované jako poly P bakterie

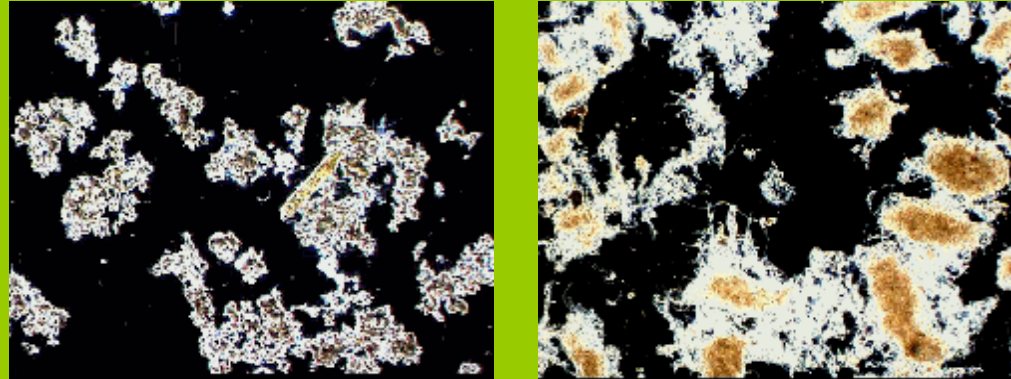
*Acinetobacter junii*, *Acinetobacter calcoaceticus*,

*Lamproedia hyalina*, *Moraxella* sp.,

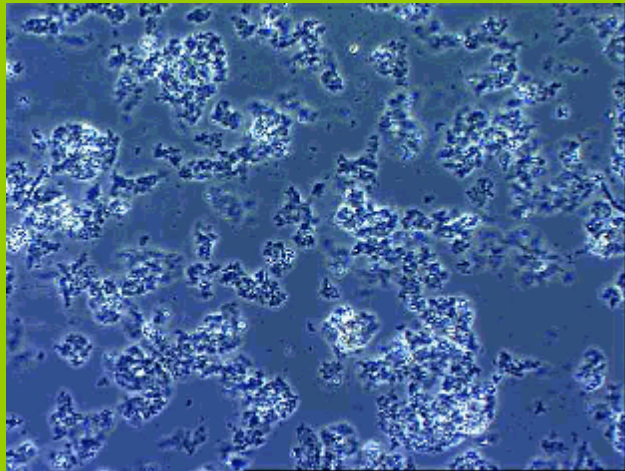
*Pseudomonas* sp. a řada dalších

Samostatně nebo v kombinaci s biologickým odstraňováním je možné použít rovněž *chemické srážení fosforu* dávkováním železnatých, železitých nebo hlinitých solí. Srážecí činidla jsou nejčastěji aplikována před usazovací nádrž

# Tvorba floků v aktivovaném kalu



Floky představují spojení malých částic do velkých partikulí obsahující nejrůznější látky, zbytky buněk, živé buňky a biopolyméry. Jedním z pozitivních aspektů bakterií tvořící floky je, že snadno sedimentují a snižují náklady na odvodňování. Negativním aspektem je vysoký podíl “obalových” polysacharidů. V těchto případech je sedimentace značně obtížná.



Tento floc je mladý a čistý



Tento floc je vytvořený ve starém kalu a začíná od středu “černat“



# Kompostování

- **Kompostování je** aerobní proces přeměny organických materiálů vlivem mikrobiální aktivity na **kompost**
- Kompost je organický prostředek pro zlepšení půdy obsahující **stabilizované** organické látky a rostlinné živiny získané řízeným biologickým rozkladem směsi sestávající zejména z rostlinných zbytků a mající deklarované kvalitativní znaky



# Kompostování

- Co se děje v kompostu

Pokud je vlhkost a teplota optimální, organická hmota se začne rychle rozkládat. Na rozkladu se podílí živé organismy – **bakterie, aktinomycety, kvasinky, houby, řasy, roztoči, červi, chvostoci a řada dalších organismů**. Souběžně s rozkladem se zároveň vytvářejí nové sloučeniny. Organický odpad se přeměňuje na komplexní látky **trvalého humusu**

- Kompostování v

zakládkách (krechtové kompostování)

boxech

vacích

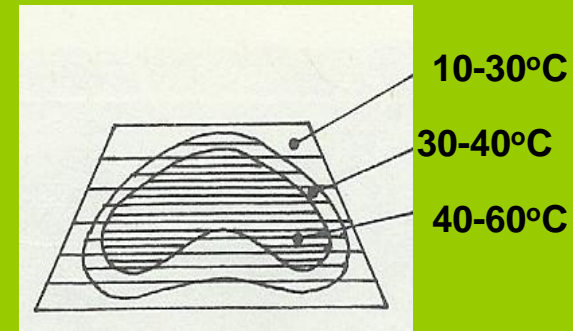
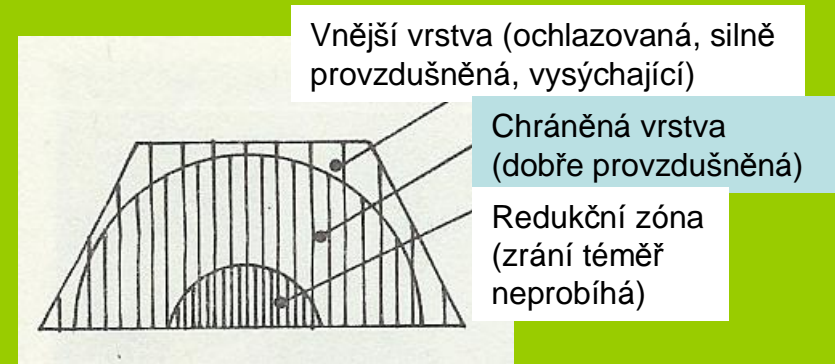
reaktorech

# Kompostování

## Krechtové kompostování



**Krechtové kompostování** znamená kompostování v podélných hromadách, které jsou pravidelně překopávány kvůli zvýšení poréznosti hromady a homogenity kompostovaných materiálů, zabezpečení dobrého provzdušňování a vhodné vlhkosti. Optimální vlhkost by měla být 50-60%. Při obsahu vody nad 60% se navozují anaerobní podmínky



# Kompostování

## Kompostování v boxech



Uzavřené kompostovací boxy s nuceným přívodem/odvodem vzduchu, bez koncovky pro čištění zápachů, umístěny v hale.

## Kompostovací vaky



Kompostovací vak je vak určený ke [kompostování biologicky lehce rozložitelných odpadů](#), vybavený [aerací](#) a dalším příslušenstvím nezbytným pro kontrolu a řízení kompostovacího procesu.

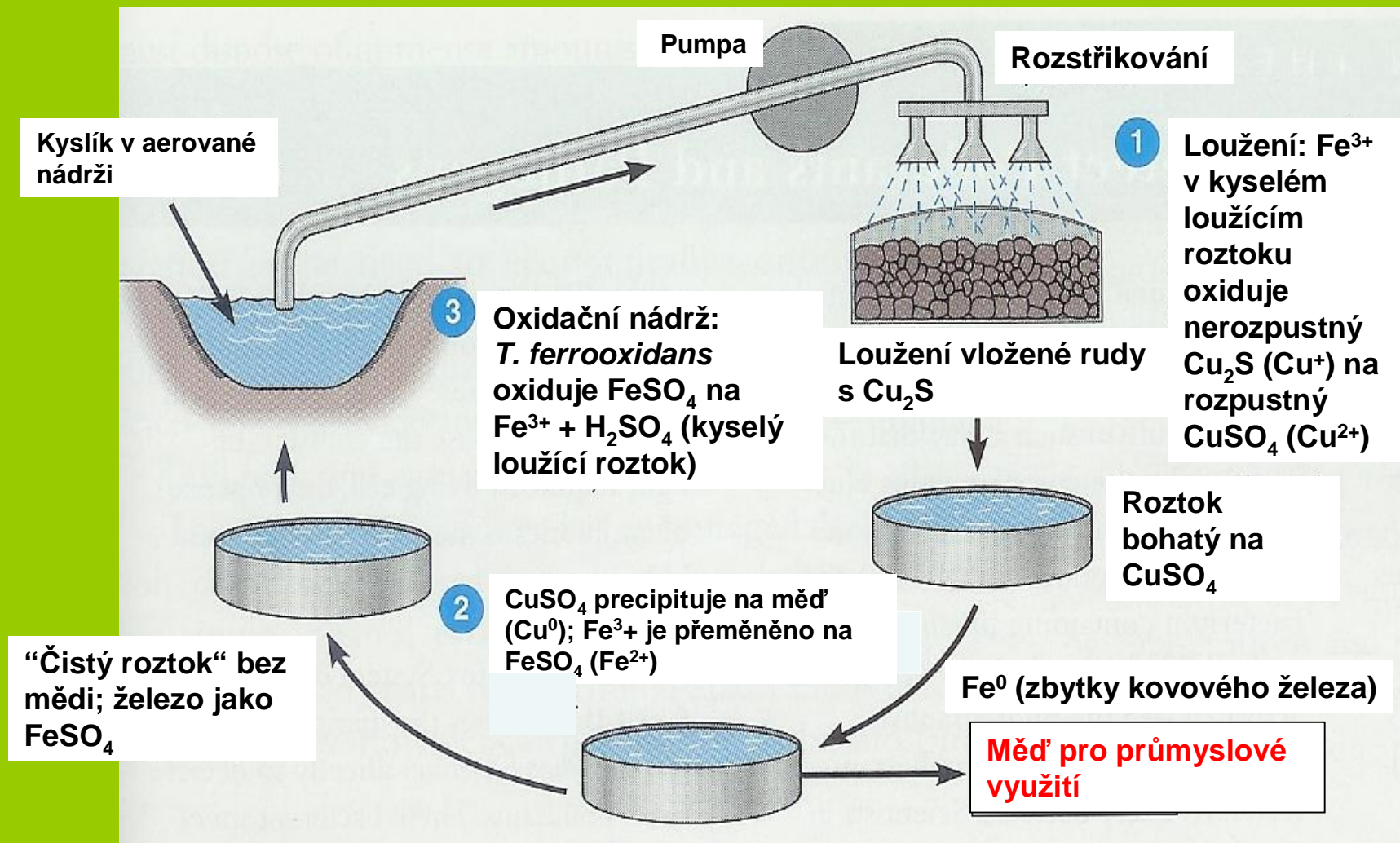
# Kompostování

- **Bioreaktorové kompostování** - kompostování v uzavřených bioreaktorech/fermentorech, v nichž je proces kompostování urychlován optimalizací aerace, vlhkosti a řízením teploty.
- Bioreaktory pro
  - diskontinuální provoz - tepelně izolované boxy, kontejnery nebo otáčivé bubny
  - kontinuální provoz - tunelové nebo věžové bioreaktory, které jsou na vstupu průběžně plněny a na výstupu po 10-14 dnech vychází částečně zfermentovaný produkt.
- Během kompostování v reaktorech by měla teplota dosáhnout minimálně po dobu jedné hodiny 70 °C.

# Biologické loužení kovů z rud

- **Biohydrometalurgie** – využití mikroorganismů při získávání kovů
- Biologické loužení se využívá v případech, kdy obsah kovu v rudě je velice nízký (v rozmezí asi 0,1-0,5% kovu). Jde většinou o tzv. nebilanční rudy nebo hlušinu
- Tímto technologickým postupem se nejprve získávala měď a uran. Později i další kovy

# Získávání mědi



# Získávání mědi

Rozstřikování loužícího roztoku po povrchu haldy



Mimo *Thiobacillus ferrooxidans* je možná aplikace i některých zástupců rodu *Penicilium* a *Aspergillus*



# Biologické loužení kovů z rud

## Uranové rudy

- Organismus: *Thiobacillus ferrooxidans*, zajišťuje aktivní poměr  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ , vysoká tolerance k  $\text{UO}_2^{2-}$
- Ekonomicky je výhodná těžba i při koncentraci 0,15%
- Nutné je intenzivní provzdušňování (do loužícího media se přidávají oxidační činidla ( $\text{MnO}_2$ ,  $\text{NaClO}_3$ ))

## Manganové rudy

- Organismus chemolitotrofní:  
*Thiobacillus ferrooxidans*,  
*Thiobacillus thiooxidans*  
chemoorganotrofní:  
*Pseudomonas manganooxidans*,  
*Bacillus megaterium*, *Aerobacter aerogenes*, *Bacillus circulans*
- Hlavním úkolem je převést Mn(IV), vyskytující se jako minerál pyroluzit ( $\text{MnO}_2$ ) do rozpustné formy Mn(II)
- Mikroorganismy produkci metabolitů umožní udržet mangan v roztoku ve formě komplexů nebo iontů
- Na podobném principu je založeno i získávání manganu z mořské vody